

日本沿岸に生息するスナメリの寄生蠕虫相

2018 年 12 月

長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科

塩崎 彬

目次

緒言	1
1 章 日本沿岸の 5 個体群におけるスナメリの寄生虫調査	
背景	4
試料と方法	6
結果	11
考察	16
2 章 二生吸虫類 <i>Synthesium elongatum</i> の分類学的検討	
背景	19
試料と方法	23
結果	28
考察	35
3 章 <i>Halocercus</i> 属肺線虫の幼獣宿主への移行経路の推定	
背景	37
試料と方法	39
結果	41
考察	41
総合考察	43
謝辞	48
Appendix 1, 2	49
引用文献	50

緒言

寄生とは他の生物の体表や体内に住みついて栄養を得る生活様式である。寄生する側を寄生体、される側を宿主とよび、寄生体の中でも動物と原虫類を総称して寄生虫とよぶ。寄生虫学において寄生蠕虫とは主に線形動物門(線虫類)、扁形動物門(吸虫類および条虫類)、鉤頭動物門(鉤頭虫類)の寄生性種を指す。

寄生蠕虫を採取するには宿主の解剖が必要だが、多くの鯨種は捕殺が物理的に困難である。また個体数の減少や絶滅が危惧される種も多く、さらに現代では動物愛護の観点からも捕殺を伴う調査には批判が向けられやすい。そのため現代の鯨類研究では海岸等に座礁・漂着(ストランディング)したり漁具等に混獲された死体が主な試料となり(石川, 2008)、寄生蠕虫もこれらから採取するのが通例である。しかしストランディングや混獲は偶然に発生し、また死体は発見時点で腐敗していることも多く、寄生蠕虫の良好な標本を計画的に得ることは難しい(Gibson, 2005)。このような制約の中で鯨類の寄生蠕虫の研究は、分布域が広くストランディングや混獲個体が得られやすい鯨種を中心に進んできた。そのため分布域が限られていたりストランディング例の少ない鯨種では寄生虫学的知見の少ない、あるいは全く無い種も多い(倉持, 2000)。また既知の寄生蠕虫にも少数の標本や状態の悪い標本に基づいて記載されたために特徴が明らかでない種が多く(Kamo et al., 1982; Adams and Rausch, 1989; Fernández et al., 1994)、DNA解析の技術が確立される前に記載された種では新規標本が採取されないためにDNA情報の得られていない種が多い。

本研究で対象としたスナメリ(*Neophocaena asiaeorientalis sunameri*)は東アジア沿岸に分布する小型ハクジラ的一种である。スナメリ属はかつて1属1種とされていたが現在は2種に分けられている(Jefferson and Wang, 2011)。台湾海峡から朝鮮半島、日本列島に生息するスナメリには、沿岸性亜種の *N. a. sunameri* と長江流域に生息する淡水性亜種の *N. a. asiaeorientalis* が存在し、別種のニシスナメリ(*N. phocaenoides*)はペルシャ湾からアラビア海、ベンガル湾、インドネシアから台湾海峡までの東南アジアに生息する(Berta, 2016)。日本沿岸ではスナメリは沿岸性が強く、国内で発生する年間のストランディング・混獲事例に対し件数・頭数ともに高い割合を占める(日本鯨類研究所ストランディングレコード; 石川ら, 2018)。そのため目視調査や解剖調査に基づく生物学的知見は充実している。一般的な生態としてスナメリは水深 50m 以浅の砂底質を好み(Shirakihara et al. 1994; Yoshida et al., 1997)、食性は日和見的で魚類、甲殻類、頭足類などを捕食する(片岡ら, 1976; Shirakihara et al., 1992; 2008)。

スナメリ属の寄生虫に関する研究は国内外の成果を合わせて Table 1 に列挙したものがある。このうち Jefferson and Wang (2011)以前の研究は、宿主の産地からスナメ

リ属のどの種あるいは亜種を対象としたか推測できるが、2種の分布が重なる台湾海峡周辺で行われた研究では対象種は特定できない。スナメリの寄生蠕虫は1980年代までに多数の新種記載や新宿主報告がなされたが、これらはあくまでスナメリにその種が寄生するという断片的な情報にとどまっており、寄生虫相という観点では十分とはいえない。スナメリに限らず、各寄生虫の宿主あたりの寄生数や寄生頻度、地理的分布といった情報を含めて初めて寄生虫の生態や宿主との関係性について論じることができよう。Kuramochi et al. (2000)は日本のスナメリを対象に寄生虫相の予察的調査を行ったが、その後の進展はない。スナメリの重要な特徴の一つに沿岸定住性が挙げられ、またユーラシア大陸と日本列島の間、さらに日本沿岸の生息域間でも遺伝的分断が見られる(Yoshida et al., 2001; Lin et al., 2017)。寄生虫は宿主の分布域や個体群構造を反映することが多く、このような遺伝的背景が明らかな鯨種で寄生虫相を調べることは、個体群間の生態の違いを示す知見につながると期待できる。またスナメリの寄生虫には記載以降、分類学的検討を経ていない種が多く、これらの分類の確認は寄生虫学の基礎として重要である。さらに寄生虫相の知見を活用する上で寄生虫の生態解明は大きな意義を持つが、スナメリに限らず鯨類の寄生蠕虫において中間宿主や感染経路といった生態がわかっている種はごく限られている。

本研究の1章では、日本沿岸のスナメリ個体群を対象に、寄生蠕虫の地理的分布と寄生頻度の調査を行った。2章ではスナメリの寄生蠕虫のうち、分類学的に問題のある種が見出されたため、その分類学的検討を行った。3章ではスナメリ属の病理学にとって重要な肺線虫に着目し、その感染経路の推定を行った。これら3つの調査を通じて日本沿岸のスナメリ寄生蠕虫相を明らかにすることを目的とし、さらに寄生虫-宿主関係や他の鯨種との相違といったスナメリの寄生虫学的特徴を考察した。

Table 1. スナメリ属を対象とした寄生虫研究.

文献	宿主	地域	内容	報告された寄生虫の分類群*と種名
Wu (1929)	<i>Neophocaena</i> sp.	中国, 廈門市	新種記載	(N) <i>Halocercus pingi</i>
Hsü and Hoeppli(1933)	<i>Neophocaena</i> sp.	中国, 廈門市	新種記載	(N) <i>Stenurus auditivus</i>
Hsü (1935)	<i>Neophocaena</i> sp.	中国, 廈門市	新種記載	(C) <i>Diphyllbothrium fuhrmanni</i>
Ozaki (1935)	<i>N. asiaeorientalis</i>	日本, 広島	新種記載	(T) <i>Orthosplanchnus elongatus</i> <i>Campula folium</i> <i>Nasitrema spathulatum</i>
Yamaguti (1951)a	<i>N. asiaeorientalis</i>	日本, 瀬戸内海	新種記載	(T) <i>Nasitrema spathulatum</i> <i>Nasitrema sunameri</i>
Yamaguti (1951)b	<i>N. asiaeorientalis</i>	日本, 瀬戸内海	新種記載	(N) <i>Halocercus sunameri</i> <i>Pseudostenurus sunameri</i>
Devaraj and Bennet(1974)	<i>N. phocaenoides</i>	インド西部, カルワル	新宿主報告	(E) <i>Xenobalanus globicipitis</i>
Pilleri (1974)	<i>N. phocaenoides</i>	パキスタン, 詳細不明	新宿主報告	(N) <i>Anisakis typica</i>
長崎・亀谷(1976)	<i>N. asiaeorientalis</i>	日本, 詳細不明	症例報告	(T) <i>Campula folium</i>
Petter and Pilleri(1982)	<i>N. asiaeorientalis</i>	中国, 武漢市, 長江	新種記載	(N) <i>Pharurus asiaeorientalis</i>
Tao (1983)	<i>Neophocaena</i> sp.	中国, 南京	新種記載	(N) <i>Stenurus nanjingensis</i>
菊池ら (1985)	<i>N. asiaeorientalis</i>	日本, 静岡	病理所見の報告	(T) <i>Campula folium</i>
Hafeezullah (1986)	<i>N. phocaenoides</i>	インド西部, ズアリ川河口	新宿主報告	(T) <i>Synthesium tursionis</i>
Huang et al. (2000)	<i>Neophocaena</i> sp.	中国	新宿主報告	(E) <i>Conchoderma auritum</i>
Parsons and Jefferson (2000)	<i>Neophocaena</i> sp.	香港, 詳細不明	病理所見の報告	(N) <i>Halocercus pingi</i>
Kuramochi et al. (2000)	<i>N. asiaeorientalis</i>	日本, 山口、茨城、千葉	寄生虫相の調査	(N) <i>Halocercus pingi</i> <i>Halocercus sunameri</i> <i>Halocercus taurica</i> <i>Pseudostenurus sunameri</i> <i>Otophocaenurus asiaeorientalis</i> (A) <i>Corynosoma</i> sp. (T) <i>Nasitrema spathulatum</i> <i>Nasitrema sunameri</i> <i>Campula oblonga</i> <i>Hadwenius nipponicus</i> <i>Delphinicola tenuis</i> (E) <i>Xenobalanus globicipitis</i>
Parsons et al. (2001)	<i>Neophocaena</i> sp.	香港, 詳細不明	病理所見の報告	(N) <i>Halocercus pingi</i>
Kuramochi et al. (2001)	<i>N. asiaeorientalis</i>	日本, 鮫子沖	新宿主報告	(N) <i>Anisakis simplex</i>
Nakayama et al. (2009)	<i>N. asiaeorientalis</i>	日本,	化学汚染との関係解析	(N) <i>Halocercus</i> sp. (T) <i>Campula</i> sp.
Isobe et al. (2011)	<i>N. asiaeorientalis</i>	日本,	化学汚染との関係解析	(N) <i>Halocercus</i> sp. (T) <i>Campula</i> sp.
Wan et al. (2017)	<i>N. asiaeorientalis</i>	中国, 黄海、渤海	寄生虫相の調査 病理所見の報告	(N) <i>Anisakis pegreffii</i> <i>Halocercus</i> sp. <i>Crassicauda magna</i> (T) <i>Campula oblonga</i> (T) <i>Synthesium seymouri</i>
Gui et al. (2018)	<i>N. asiaeorientalis</i>	中国, 珠江デルタ、香港	化学汚染との関係解析	(N) <i>Halocercus</i> spp. <i>Cystidicola</i> sp. <i>Anisakis typica</i>

* 分類群の略称: (A) 鉤頭虫; (C) 条虫; (E) 外部付着生物; (N) 線虫; (T) 吸虫.

1 章 日本沿岸の 5 個体群におけるスナメリの寄生虫調査

背景

日本国内ではスナメリは 5 つの海域(仙台湾～東京湾[以下、ST]、伊勢湾・三河湾[IM]、瀬戸内海[SIS]、有明海・橘湾[AT]、大村湾[OB]) に生息し、各海域で独立した個体群を形成することが頭骨形態とミトコンドリア DNA の解析からわかっている(Yoshida et al., 1995; Yoshida et al., 2001) (Figure 1-1)。

Kuramochi et al. (2000)は SIS と ST のスナメリから計 21 頭を調査し、2 つの個体群間でみられる寄生虫の種が異なることを指摘した。しかしその後、スナメリの寄生虫相に関する研究は国内で実施されておらず、進展はない。IM、AT、OB 個体群にどの寄生虫が産するのか報告はなく、また Kuramochi et al. (2000)で調べられた 2 個体群においても検体数は少ない。

本研究では日本沿岸のスナメリ 5 個体群を対象に、個体群間の寄生虫種の違いと寄生頻度のデータを得るため、多頭解剖にもとづく寄生虫相調査を行った。

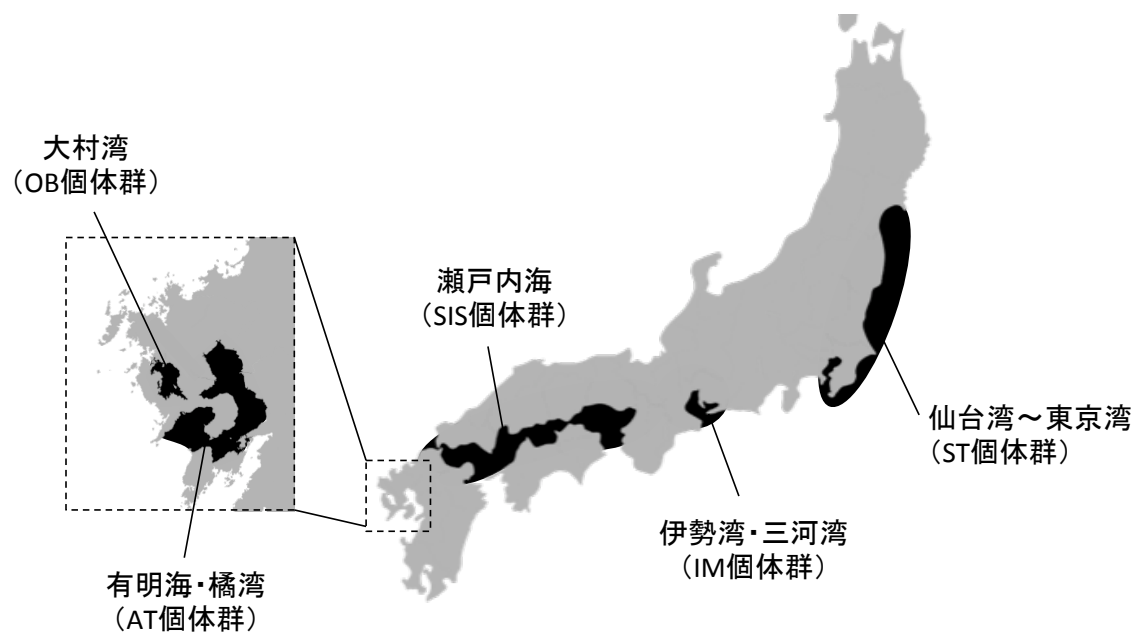


Figure 1-1. 日本沿岸のスナメリ個体群の分布.

試料と方法

スナメリ試料と寄生虫標本

本研究で用いたスナメリ検体は全て座礁または混獲後に死亡した個体あるいは死後に漂着・漂流していた自然死個体である。2010 年から 2015 年にかけて大村湾、有明海、橘湾、瀬戸内海、伊勢湾、三河湾、千葉県および茨城県の太平洋岸で発見された死体を合計で 137 頭入手した。各検体の情報を Table 1-1 に示す。鯨体は回収後、関係する法規に従い水産庁および農林水産省に届け出た後、解剖するまで-25℃～-18℃で冷凍保存した。

Table 1-1. 調査したスナメリの検体数. 個体群別に検体数と体長で区分した検体数を示す.

産地 (個体群)	採取年	検体数	体長別の宿主区分			
			<90 cm	90-110 cm	>110 cm	不明
大村湾 (OB)	2010-2015	50	17	7	26	-
有明海・橘湾 (AT)	2010-2015	42	6	10	25	1
瀬戸内海 (SIS)	2012-2015	24	5	2	17	-
伊勢湾・三河湾 (IM)	2014	19	14	0	5	-
千葉・茨城太平洋沖 (ST)	2013-2014	2	1	0	1	-
合計		137	43	19	74	1

寄生虫の採取

解剖に先んじて体長と性別など基礎生物学データを採取した。解剖前に全身を観察して外部寄生虫の有無を確認し、解剖して寄生蠕虫の好適寄生部位である頭蓋洞、肺、肝臓、胃、腸管を主に検査した。頭蓋洞は頭蓋の腹側にあつて翼状骨洞や耳周骨洞と連絡する腔所である。頭部腹側から頭蓋洞を開き、耳骨を外した後、肉眼で見える虫体を可能な限り摘出した。その後洞内部を流水に晒し、深部の虫体を洗いだしてバット等で回収した。肺は気管を切開し寄生虫の有無を肉眼で確認した後、左右とも 1~2cm 厚にスライスして真水中で揉み洗いした。洗滌した水を静置し、上澄みを捨てて残った沈渣を実体顕微鏡で観察し、虫体を回収した。肝臓は胆管を切開して肉眼で見える虫体を摘出した後、肺と同様にスライスして洗滌し虫体を回収した。スナメリの胃は複胃であり、食道から前胃・主胃・幽門胃と続き十二指腸膨大部を経て小腸に連なる。食道から十二指腸膨大部までを摘出して切開し、餌残渣を含む内容物を全て洗滌した。その後実体顕微鏡下で沈渣から虫体を回収した。腸管は全て切開した後、内壁を肉眼で観察して付着した虫体を探索した後、真水で洗滌して沈渣を実体顕微鏡で観察し虫体を回収した。検体の死後変化によって臓器が腐敗していた場合は臓器表面と断面の肉眼観察のみにとどめ、高度に腐敗していた場合は検査対象としなかった。一部の検体では腐敗や食害によって臓器が逸失している場合もあった。合計で頭蓋洞 118 頭分、肺 114 頭分、肝臓 69 頭分、胃 49 頭分、腸管 88 頭分を検査した。解剖中にこれら以外の箇所からも寄生虫が見られた場合はこれも採材した。

寄生蠕虫の標本処理と同定手順

線虫は真水で洗浄した後 70%エタノールで固定し、70~80%エタノール液浸標本として保管した。観察時に保存液から真水に移してエタノール分を除去し、Gator 氏液^{*1}で透徹して顕微鏡下で観察した。宿主一頭あたりの寄生数が膨大になる場合は一頭あたり 100 隻の虫体を無作為に同定した後、それらの湿重量と全虫体の湿重量との比から全虫体数を推定した。吸虫は宿主由来の体液が滲出するまで真水にひたし、全虫体数の約一割を圧平染色標本とし、残りを液浸標本（70%エタノール、99%エタノール、10%中性緩衝ホルマリン）として保管した。大型条虫は一隻ずつ取り出して洗浄し、片節の一部と頭節を圧平染色標本とし、残りは液浸標本（グリセリン 10%含有 70%エタノール）とした。小型条虫は実体顕微鏡下で観察した後、液浸標本（10%中性緩衝ホルマリン）とした。鉤頭虫は全虫体数の約一割を圧平染色標本とし、残りを液浸標本（70%エタノール）とした。

^{*1} Gator 氏液：アラビアゴム 5g、抱水クロラール 30g、氷酢酸 3ml、水 10ml を混和する(倉持, 2003)。

ール、99%エタノール、10%中性緩衝ホルマリン)とした。

圧平染色標本の作成方法は倉持 (2003)および上村ら (2008)を基本とし、虫体の種類、大きさ、鮮度、染色状況に応じて適宜修正を加えた。以下に本研究で行った圧平固定、アルムカーミン染色、Semichon のカーミン染色、Heidenhain の鉄ヘマトキシリン染色の一連の手順を記す。

<圧平固定>

1. 洗浄した虫体をスライドガラスに乗せ、面相筆で姿勢を整えた。
 2. 折りたたんだ耐水紙を枕としてスライドガラスの上下に置き、固定液 (70%エタノールまたは AFA 液^{*2}) で濡らしたスライドガラスをかぶせた。虫体が小さいときは耐水紙の代わりに木綿糸をスライドガラスに巻き、カバーガラスをかぶせた。
 3. 1 分静置した後、スライドガラスまたはカバーガラスが動かないように木綿糸を巻き付けた。
 4. スクリュー管瓶に固定液を入れて保管した。AFA 液で固定した場合は 1~2 日後に水洗し 70%エタノールにて保管した。
 5. 1 日から数日おきに木綿糸を外し、耐水紙を 1 枚または 2 枚ずつ減らして徐々に虫体を薄くしていった。最終的に紙一枚程度の厚さになるまでこれを続けた。
- 次の染色過程にてエタノールを用いた脱水を行うが、その際に高濃度エタノールに浸漬すると虫体に変形することがある。そこで圧平固定の後に圧平したまま 80、90、99%エタノールに 1 日ずつ順に浸漬し脱水した。脱水後は再び 70%エタノールに戻して保管した。

<アルムカーミン染色> 大型の吸虫、条虫、鉤頭虫に使用

1. 虫体を固定液からとりだし、圧平したまま流水に浸して 30 分間水洗した。
2. 木綿糸をとり重ねたスライドガラスを外した。このとき虫体はどちらかのガラスに張り付くが、剥がれてしまった場合は虫体を新しいスライドガラスに乗せ、虫体よりも大きい濾紙片をかぶせて上から指で押し付けてガラスに張り付けた。それでも剥がれてしまうようなら木綿糸でスライドガラスに縛り付けて次の工程に進んだ。
3. 30 分間水洗した。
4. 染色液^{*3}に 12 時間以上浸漬し染色した。

^{*2} AFA 液：酢酸 0.4／ホルマリン 0.6／エタノール 5／水 4 の混合液。

^{*3} アルムカーミン液：カルミン 2g、カリウムミョウバン 5g、水 100ml を混和し、30 分間沸騰させる。冷却濾過後、チモール 1g を加えて保存する。2~3 倍に希釈し使用する。

5. 1 時間以上水洗した。
6. 虫体の染色が濃い場合は塩酸を 1%含む 70%エタノールに浸漬し脱染色した。ただし長時間浸漬すると虫体がスライドガラスから剥がれるため、過染していない限りこの工程は省略した。
7. 70、80、90、99、100%エタノールの順に、各 2 時間以上浸漬し脱水した。
8. エタノール 3 溶：キシレン 1 溶およびエタノール 1 溶：キシレン 3 溶の液にそれぞれ 3～4 時間ずつ浸漬し、エタノール分をキシレンに置換した。
9. キシレン 3 溶：クレオソート 1 溶に一晩浸漬し、透徹および虫体内の酵素の不活化処理をした。
10. キシレンに 3～4 時間浸漬しエタノールを完全に置換した。
11. カナダバルサムで封入し乾燥させた。

<Semichon のカーミン染色> 大型の吸虫、条虫に使用

- 1.～3.はアルムカーミン染色と同じ。
 4. 染色液^{*4}に 10 分間浸漬して染色した。
 5. 1 時間以上水洗した。
 6. 虫体の染色が濃い場合は塩酸を 1%含む 70%エタノールに浸漬し脱染色した。ただし長時間浸漬すると虫体がスライドガラスから剥がれるため、過染していない限りこの工程は省略した。
 7. 70、80、90、99、100%エタノールで脱水した。70、80%エタノールには脱色作用があるので各 30 分、90%以上では 1 時間浸漬した。
- 以降の工程はアルムカーミン染色の 8.～11.と同じ

<Heidenhain の鉄ヘマトキシリン染色> 小型の吸虫に使用

- 1.～3.はアルムカーミン染色と同じ。
4. 3%鉄ミョウバン液に 12 時間以上浸漬し媒染した。
5. 染色液^{*5}に 12 時間以上浸漬し、虫体が真っ黒になるまで過染した。
6. 1～2 時間程度、染色液が滲出しなくなるまで十分に水洗した。
7. 1%鉄ミョウバン液に浸漬し、虫体の内部構造が見えるまで脱染色した。脱染色が進まない場合は 3%、5%の鉄ミョウバン液または 1%シュウ酸を用いた。
8. 1 時間水洗し、ミョウバン成分を除去した。

^{*4} Semichon のカーミン液：氷酢酸 50ml、精製水 50ml にカルミン 5g を混和し、15 分間沸騰させ一晩放置する。濾過後、チモール 1g を添加して保存する。70%エタノールで 2 倍に希釈して使用する。

^{*5} Heidenhain の鉄ヘマトキシリン液：ヘマトキシリン 1g、無水エタノール 20ml、水 100ml を混和し、暗所で 1 ヶ月以上放置する。濾過して 2～3 倍に希釈し使用する。

以降の工程はアルムカーミン染色の 7.~11.と同じ。

同定は Anderson (2009)、Gibson (2005)、Hoberg (1994)、Yamaguti (1963)を用いて属まで同定し、その後それぞれの種の記載文献に照合して種同定した。ただし肺線虫類(*Halocercus* 属)は雌虫体の形態が種間で極めて類似し同定が困難なため、雄虫体のみ同定した。標本の登録番号は Appendix 1.を参照。

統計解析

寄生蠕虫の採取方法に関して、肉眼観察のみの検査では偽陰性の生じる可能性が高い。そのため寄生頻度の算出には、臓器を洗滌し実体顕微鏡下で観察した検体のみを対象とした。多くの寄生蠕虫は宿主にとって餌となる中間宿主を介して寄生するため、摂餌を始めているかどうかでスナメリを区分した。Shirakihara et al. (2008)ではロジスティックモデルからスナメリの離乳体長を推定しており、それによると体長 98cm から固形物を食べ始め、101cm で離乳するとされている。また同モデルを用いると体長 92cm 以下と 109cm 以上でそれぞれ固形物または母乳を摂取する確率が 5%以下であると算出される。そこで本研究では体長 90cm 未満のスナメリを授乳期（餌を食べない）、90~110cm を離乳期（母乳と餌を摂取）、110cm より大きいスナメリを離乳後（餌しか食べない）として各段階で寄生頻度を算出した。

寄生頻度を個体群間あるいは成長段階間で比較する際は Fisher の正確確率検定を行い、多重比較には Benjamini-Hochberg 法(BH 補正)を適用した Fisher の正確確率検定でペアワイズ比較を行った。ただし ST 個体群は検体数が少ないため解析から除外した。各検定で有意水準は 0.05 とした。解析には R 3.3.1 (R Core Team, 2016)と fmsb パッケージ(Nakazawa, 2015)を用いた。

結果

採取、同定された寄生蠕虫の種と寄生部位を Table 1-2 に示す。合計 13 種(線虫 6 種、吸虫 4 種、条虫 2 種、鉤頭虫 1 種)が採取され、外部寄生虫及び付着生物は見つからなかった。ほとんどの虫体は特定の部位に寄生していたが、他の部位から検出される虫体もあった。*Pharurus sunameri* と *P. asiaeorientalis* は主に頭蓋洞に寄生していたが気管支や肺の沈渣からも検出された。*Halocercus pingi* は体長数十 cm におよぶ長大な線虫であり、寄生部位は肺であるがその虫体は気管から気管支まで伸びている場合が見られた。また 1 頭のスナメリでは本種が子宮頸部にみられた。*Campula oblonga* と

*Synthesium elongatum**⁶は肝臓または胆管と腸管から採取された。これらの吸虫は胃内から見つかることもあったがそれ以外の蠕虫は胃からは検出されなかった。*Tetrabothrius* sp.は1宿主から1隻のみ採取されたため、虫体に不可逆的处理を加える圧平染色や遺伝子解析による同定は保留した。*Corynosoma* sp.はKuramochi et al. (2000)にて報告された未記載種の可能性がある同属の標本と形態は一致した。本研究の標本は吻鉤の数など形態的には*C. alaskens*に似るが、状態が不良であり確実な同定には至らなかった。

Table 1-3 に全体および各個体群で見られた蠕虫の種名、被寄生宿主数、宿主あたりの寄生数を示す。全体では頭蓋洞線虫が計 80 頭のスナメリから検出され、うち 4 頭は線虫の状態が悪く種同定に至らなかった。種同定できたスナメリのうち、68 頭で *P. sunameri* と *P. asiaeorientalis* の両方が見られた。*Stenurus nanjingensis* は 2 頭のスナメリで見つかったがいずれも *Pharurus* 属 2 種との共寄生だった。*Nasitrema* 属は 62 頭で検出され、うち 3 頭は虫体が腐敗しており同定には至らなかった。40 頭で *Na. sunameri* と *Na. spathulatum* の 2 種が共寄生し、61 頭で *Pharurus* 属と *Nasitrema* 属の共寄生が見られた。肺線虫は 64 頭で見られたが、うち 29 頭は虫体が腐敗または断片化しており同定に至らなかった。*H. pingi* と *H. sunameri* の共寄生はなかったが、*H. taurica* は 2 頭の宿主で *H. sunameri* と共寄生していた。

各蠕虫の寄生頻度を個体群別および成長段階別に Table 1-4 に示す。頭蓋洞線虫および吸虫の寄生頻度はどの個体群も授乳期より離乳後個体で高かった。離乳後の寄生頻度を比較すると *P. sunameri*、*P. asiaeorientalis*、*Na. sunameri* には個体群間で有意な差はなかったが、*Na. spathulatum* は OB、AT、SIS では 80%以上であるのに対し IM では 0%と有意に低かった。*H. pingi* の寄生頻度はどの個体群も授乳期で高く、寄生頻度に個体群間で有意な差はなかった。5 個体群の合計では授乳期の寄生頻度は 35%になり、離乳後の寄生頻度 2%と比べ有意に高かった。*H. sunameri* は離乳期および離乳後でのみ見付き、それらの寄生頻度に個体群間で有意な差はなかった。個体群全体では離乳後の寄生頻度は 20%で授乳期の 0%より有意に高かった。*C. oblonga* は離乳後にのみ見られ、OB の頻度 7%に対し AT、SIS、IM は 63~100%と有意に高かった。*S. elongatum* は離乳後で高頻度に見られた。離乳後の OB と AT の頻度は SIS および IM の約 4 分の 1 であり、4 個体群間の比較ではその差は有意であったが、事後比較ではどの個体群間の比較も有意ではなかった。

*⁶ 2 章で *S. tursionis* のシノニムであることを確認した。

Table 1-2. 日本沿岸のスナメリから採取された寄生蠕虫. 寄生部位は頻度や寄生数の高かった部位を主な寄生部位, 低かった部位をその他の寄生部位として記した.

種	主な寄生部位	その他の寄生部位	同定に用いた文献
線虫			
<i>Pharurus asiaeorientalis</i>	頭蓋洞	気管支	Petter and Pilleri (1982)
<i>P. sunameri</i>	頭蓋洞	気管支、肺	Yamaguti (1951b)
<i>Stenurus nanjingensis</i>	頭蓋洞		Tao (1983)
<i>Halocercus pingi</i> *	肺	気管支、子宮頸部	Wu (1929); Parsons et al. (2001)
<i>H. sunameri</i> *	肺		Yamaguti (1951b)
<i>H. taurica</i> *	肺		Arnold and Gaskin (1975)
吸虫			
<i>Nasitrema spathulatum</i>	頭蓋洞		Ozaki (1935)
<i>Na. sunameri</i>	頭蓋洞		Yamaguti (1951a)
<i>Campula oblonga</i>	肝臓／胆管	胃、腸	Yamaguti (1951a)
<i>Synthesium elongatum</i>	腸	胃	Ozaki (1935)
条虫			
<i>Diphyllbothrium fuhrmanni</i>	腸		Kamo et al. (1982)
<i>Tetrabothrius sp.</i>	腸		Hoberg (1994)
鉤頭虫			
<i>Corynosoma sp.</i>	腸		Kuramochi et al. (2000)

* 肺線虫類は雄のみ同定した.

Table 1-3. 日本沿岸のスナメリ 5 個体群(OB, AT, SIS, IM, ST)における各蠕虫の被寄生宿主数と寄生虫体数.

部位 種	全体						OB			AT			SIS			IM			ST					
	被寄生 宿主	寄生虫体数			被寄生 宿主	寄生虫体数			被寄生 宿主	寄生虫体数			被寄生 宿主	寄生虫体数			被寄生 宿主	寄生虫体数						
		平均	最小	最大		平均	最小	最大		平均	最小	最大		平均	最小	最大		平均	最小	最大				
頭蓋洞 / 調査検体数	118				47			39				19			11		2							
<i>P. asiaeorientalis</i>	69	370	1	2496 *	27	417	5	2496 *	23	239	1	1390 *	15	538	5	1483 *	3	138	6	235 *	1	-	267 *	-
<i>P. sunameri</i>	75	809	1	5824 *	28	903	2	5824 *	26	805	2	3324 *	15	750	9	1906 *	5	421	1	1147 *	1	-	1069 *	-
<i>S. nanjingensis</i>	2	-	1	22	2	-	1	22	0	-	-	-	0	-	-	-	0	-	-	-	0	-	-	-
<i>Na. spathulatum</i>	51	15	1	82	19	8	2	31	19	21	1	82	13	18	1	78	0	-	-	-	0	-	-	-
<i>Na. sunameri</i>	48	19	1	252	17	7	1	36	16	33	1	252	9	11	2	39	5	30	4	55	1	-	17	-
肺 / 調査検体数	114				45			27				21				19		2						
<i>H. pingi</i>	22	63	1	302	13	80	2	302	3	2	1	3	1	-	10	-	5	66	1	130	0	-	-	-
<i>H. sunameri</i>	13	12	1	58	6	10	1	32	3	13	6	21	3	20	1	58	1	-	1	-	0	-	-	-
<i>H. taurica</i>	2	-	1	1	1	-	1	-	1	-	1	-	0	-	-	-	0	-	-	-	0	-	-	-
肝臓 / 調査検体数	69				24			15				12				16		2						
<i>C. oblonga</i>	18	30	1	123	1	-	5	-	7	8	1	30	4	31	9	53	5	45	5	123	1	-	122	-
腸 / 調査検体数	88				31			23				17				15		2						
<i>S. elongatum</i>	16	13	1	45	3	10	6	12	2	-	12	45	8	12	1	40	3	11	1	26	0	-	-	-
<i>D. fuhrmanni</i>	3	- †	- †	123	1	-	- †	-	0	-	-	-	1	-	- †	-	0	-	-	-	1	-	123	-
<i>Tetrabothrius</i> sp.	1	-	1	-	0	-	-	-	1	-	1	-	0	-	-	-	0	-	-	-	0	-	-	-
<i>Corynosoma</i> sp.	1	-	426	-	0	-	-	-	0	-	-	-	0	-	-	-	0	-	-	-	1	-	426	-

* 寄生数が膨大になるため同定した 100 隻あたりの湿重量と全体の湿重量の比から算出した.

† 片節連帯の断片しか得られなかったため真の寄生数は不明.

Table 1-4. 日本沿岸のスナメリ 5 個体群(OB, AT, SIS, IM, ST)における宿主の体長区分ごとの各蠕虫の寄生頻度.

部位 種	寄生頻度 (%)														
	全体			OB			AT			SIS			IM		
	<90 cm	90-110 cm	>110 cm	<90 cm	90-110 cm	>110 cm	<90 cm	90-110 cm	>110 cm	<90 cm	90-110 cm	>110 cm	<90 cm	90-110 cm	>110 cm
頭蓋洞 / 調査検体数 *	21	10	50	8	4	15	4	5	15	2	1	14	6	0	1
<i>P. asiaeorientalis</i>	14	40	88	25	75	100	0	0	80	50	100	93	0	-	100
<i>P. sunameri</i>	10	40	98	25	75	100	0	0	93	0	100	100	0	-	100
<i>S. nanjingensis</i>	0	0	4	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	-	0
<i>Na. spathulatum</i>	0	10	72	0	0	80	0	0	80	0	100	86	0	-	0
<i>Na. sunameri</i>	0	10	70	0	25	67	0	0	67	0	0	64	0	-	100
肺 / 調査検体数 *	34	10	50	11	4	17	4	4	14	4	2	13	14	0	1
<i>H. pingi</i>	35	20	2	45	25	0	25	25	7	25	0	0	36	-	0
<i>H. sunameri</i>	0	10	20	0	25	24	0	0	14	0	0	23	0	-	0
<i>H. taurica</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0
肝臓 / 調査検体数 *	18	8	32	6	3	14	2	4	8	0	1	5	10	0	0
<i>C. oblonga</i>	0	13	47	0	0	7	0	25	63	-	0	80	0	-	-
腸 / 調査検体数 *	24	13	48	8	6	15	4	5	14	1	2	13	10	0	1
<i>S. elongatum</i>	4	8	29	0	17	13	0	0	14	100	0	54	0	-	0
<i>D. fuhrmanni</i>	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	-	100
<i>Tetrahobothrius</i> sp.	0	0	2	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	-	0
<i>Corynosoma</i> sp.	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	100

* 沈渣を採取し実体顕微鏡下で観察した検体のみを含めた.

考察

P. sunameri は *Pseudostenurus sunameri* として記載された(Yamaguti, 1951b)。その後 *Pseudostenurus* 属は *Pharurus* 属のシノニムとされたが(Petter and Pilleri, 1982)、以降の研究でも *Pseudostenurus* 属の名前はしばしば用いられている(Jefferson and Hung, 2004; Kuramochi et al., 2000; Parsons et al., 2001)。*P. asiaeorientalis* は *Otophocaenurus* 属とされたこともあった(Kuramochi et al., 2000)が、現在では *Otophocaenurus* 属も *Pharurus* 属のシノニムとされている(Anderson, 2009)。本研究では最新の分類に従い、どちらも *Pharurus* 属として報告する。*S. elongatum* は原記載では *Orhosplanchnus elongatus* として記載され(Ozaki, 1935)、科および属の分類変更に伴い *Odhneriella* 属から *Hadwenius* 属へと移された(Yamaguti, 1971; Adams and Rausch, 1989)。*Hadwenius* 属は最新の分類では *Synthesium* 属のシノニムとされている(Gibson, 2005)。本研究では最新の分類に従い *S. elongatum* とする。

本研究では寄生蠕虫の新地域報告と新宿主報告を一件ずつ得た。*S. nanjingensis* は中国南京地方に生息するスナメリ(いずれの種かは不明)から発見され記載された(Tao, 1983)。本種の日本沿岸での発見は初記録だが、2 宿主のみから見つかり寄生数も低い。ため日本沿岸では普通種ではなく、中国沿岸から本種の幼虫を含む餌生物が日本沿岸へ流入してきたか、または宿主となったスナメリが何らかの理由で日本と大陸間を横断しその間に寄生されたものと考えられる。*Tettrabothrius* sp. はスナメリ属では初報告であるが、同様に寄生頻度と寄生数は低く偶発的な寄生と考えられる。

本研究で OB、AT、IM 個体群について初めて寄生虫学的知見を得、SIS と ST 個体群についても検体数を増やすことができた。宿主あたりの寄生数と寄生頻度の面から、日本沿岸のスナメリでは 8 種: *P. sunameri*、*P. asiaeorientalis*、*H. pingi*、*H. sunameri*、*Na. spathulatum*、*Na. sunameri*、*C. oblonga*、*S. elongatum* が主要な寄生蠕虫であると考えられる。海棲哺乳類では胃内線虫のアニサキス類 (*Anisakis* 属および *Pseudoterranova* 属) が多くの鯨種でみられるが(影井ら, 1967; 菊池ら, 1967; Gibson et al., 1998)、本研究で調査したスナメリでは寄生はなく Kuramochi et al. (2000)でもアニサキス類は見つかっていない。ただし Kuramochi et al. (2001)では ST 個体群のスナメリ 1 頭から *A. simplex* 幼虫 2 隻を認め、近藤ら (2018)は瀬戸内海で救護したスナメリ 1 頭に *Anisakis* sp. の成虫寄生があった例を報告している。また Pilleri (1974)はパキスタンのニシスナメリから *A. typica* 寄生を報告し、Wan et al. (2017)は黄海/渤海のスナメリを調査して 31 頭中 25 頭という高頻度で *A. pegreffii* が寄生していたと報告している。よってスナメリ属または種内でアニサキス寄生に個体差や地域差があると考えられる。アニサキス類の生活史はアミ類を第一中間宿主、多種の魚類を待機宿主と

してヒゲクジラ類またはハクジラ類を固有宿主とする(Marcogliese, 1995)。 *A. pegreffii* は日本沿岸ではマサバ(*Scomber japonicus*)、マダラ(*Gadus macrocephalus*)、スケトウダラ(*Theragra chalcogramma*)、サワラ(*Scomberomorus niphonius*)、アカガレイ(*Hippoglossoides dubius*)などで幼虫の寄生が報告されている(Quiazon et al., 2011)。 Shirakihara et al. (2008)では OB と AT のスナメリの胃内容物解析を行い、成獣ではコノシロ、コウイカ類、ヤリイカ類が主要な餌生物であるとしている。日本のスナメリでアニサキス類の寄生が少ないことは、沿岸性であるスナメリが上記の待機宿主を捕食する機会が他の鯨類よりも少ないためと考えられる。一方、韓国ではスナメリの餌生物としてイトヨリダイ(*Nemipterus* sp.)やヒイラギ科およびニベ科魚類が多いとされている(Parsons, 1997)。また香港ではヤリイカ科、テンジクダイ科、ニベ科、カタクチイワシ科、ヒイラギ科が重要な餌生物として報告され、さらにスナメリとハンドウイルカが餌生物を競合している可能性も示唆されている(Barros et al, 2002)。胃内容物解析から推察される日本と大陸のスナメリの食性の違いについて、アニサキス類の寄生頻度が大きく異なる点もこれを支持している。

スナメリの個体群間で寄生虫相を比較すると、隣接する個体群でも種と寄生頻度に違いが見られた。ST 個体群の個体は今回 1 頭しか含まれていないが、Kuramochi et al (2000)では 4 頭(授乳期 1、離乳後 3)が調査されている。本研究では頭蓋洞吸虫の *Na. spathulatum* は IM と ST 個体群では見つからず、Kuramochi et al. (2000)でも ST 個体群から本種は見つかっていない。肝吸虫 *C. oblonga* の寄生頻度は OB 個体群で AT、SIS、IM 個体群より低かったが、Kuramochi et al. (2000)では ST 個体群の離乳後個体 3 頭の内 1 頭から *C. oblonga* が見つかっており、本研究と合わせると当該個体群の寄生頻度は 50% (2/4)となり OB 個体群よりも高い。また今回調査した ST 個体群の 1 頭では *Corynosoma* sp.が多数寄生していた。本種は Kuramochi et al. (2000)の研究でも離乳後個体のすべてで見つかっている。以上より、*Na. spathulatum* は IM および ST には分布せず、*C. oblonga* の寄生頻度は大村湾で最も低く、*Corynosoma* sp.は ST のみ寄生すると考えられる。

鯨類の寄生蠕虫で生活史に関する知見が得られている種は非常に少ない。*C. oblonga* はこれまでネズミイルカ(*Phocoena phocoena*)、イシイルカ(*Phocoenoides dalli*)で多数報告されており(Conlogue et al., 1985; Gibson et al., 1998; Siebert et al., 2006)、またマオナガ(*Alopias vulpinus*)の肝臓からも偶発寄生として発見されており、これらの食性の共通点から魚類が中間または待機宿主ではないかと推察されている(Adams et al., 1998)。*Na. spathulatum* の生活史に関する知見はまったくないが、離乳後個体に多く寄生し授乳期の寄生はないことから、餌生物を中間または待機宿主として伝播すると考

えられる。スナメリは沿岸域で甲殻類、頭足類、魚類など幅広い生物を捕食することが知られている(片岡ら, 1976; Shirakihara et al., 1992; 2008)。個体群間で見られる寄生蠕虫の種または頻度の違いは、各海域でスナメリが利用できる餌生物の違いを反映していると考えられる。

H. pingi は授乳期個体でのみ寄生がみられた。本種の若齢宿主への寄生はこれまでも報告されており、胎盤や母乳を介した垂直感染が予想されている(Parsons and Jefferson, 2000; Parsons et al., 2001; Kuramochi et al., 2000)。本研究の結果も垂直感染の可能性を支持している。同様の垂直感染はハンドウイルカ(*Tursiops truncatus*)やマイルカ(*Delphinus delphis*)に寄生する *H. lagenorhynchi* でも示唆されている(Daily et al., 1991; Fauquier et al., 2009; Tomo et al., 2010)。しかし垂直感染が事実であれば、感染源である母獣の寄生頻度は幼獣と同じかそれより高いはずであるが、本研究にて離乳後個体の肺からは *H. pingi* はほとんど発見されなかった。スナメリの幼獣では線虫性肺炎による死亡例が多数報告されているため(Parsons and Jefferson, 2000; Parsons et al., 2001)、今回調査した自然死個体の中に線虫性肺炎で死亡した個体が多く含まれていて、寄生頻度が過剰推定されたおそれがある。一方、同属の *H. sunameri* は離乳後個体の寄生頻度が授乳期より高く、餌生物を介した媒介が示唆された。ネズミイルカでは宿主の成長に伴って肺線虫の種数が増加することから、餌生物により伝播すると考えられている(Balbuena et al., 1994; Lehnert et al., 2010)。ネズミイルカの肺線虫は *H. invaginatus* および *H. taurica* であり(Dailey, 1978; Arnold and Gaskin, 1975; Gibson et al., 1998)、同属の *H. sunameri* も伝播経路が似ている可能性はある。したがってスナメリでは垂直感染による幼獣への *H. pingi* 寄生と水平感染による成獣への *H. sunameri* 寄生の両方があるが、このような宿主の成長に応じた肺線虫の種の変替は他の鯨種では知られていない。スナメリ肺線虫の寄生経路を特定するため、胎仔や母乳における *H. pingi* の存在と餌生物における *H. sunameri* の存在を確認する必要がある。

2 章 二生吸虫類 *Synthesium elongatum* の分類学的検討

背景

ブラキクラディウム科(Brachycladiidae)は海棲哺乳類の頭蓋洞または消化器系に寄生する吸虫類である(Gibson, 2005)。本科は標本採取の機会がストランディングや混獲した鯨体の解剖に限られており、状態の良い標本を得る機会は少ない。そのため多くの属および種で誤った記載や形態情報の不足があり、分類が混乱していた(Gibson, 2005)。その一つである *Synthesium elongatum* は瀬戸内海のスナメリから発見、記載された(Figure 2-1a)。本種の分類も幾度か変更されており、原記載では *Orthosplanchnus* 属(=*Orthosplanchnus elongatus*)として記載され(Ozaki, 1935)、その後 *Odhneriella* 属に移された(=*Odhneriella elongata*) (Yamaguti, 1958; 1971)。Adams & Rausch (1989) は *Odhneriella* 属の分類を見直し、本種を *Hadwenius* 属に移した(=*Hadwenius elongatus*)。 *Hadwenius* 属は現在、先取命名の原則に従い *Synthesium* 属のシノニムとされており(Gibson, 2005)、本種は現在の分類に従えば *Synthesium elongatum* となる。

S. elongatum の原記載では、発見時の虫体は生きていたと記されており、有棘の陰茎、無棘の子宮末端部、側憩室のない H 字型の腸管、卵黄腺が腹吸盤より後方にのみ分布といった特徴が詳細に記述、描画されている。ただし観察に用いた標本数は記されていない。*Synthesium* 属には現在、他に 8 種が知られている：*S. tursionis* (Marchi, 1873)；*S. seymouri* (Price, 1932)；*S. nipponicum* (Yamaguti, 1951)；*S. mironovi* (Krotov and Deliamure, 1952)；*S. subtile* (Skrjabin, 1958)；*S. delamurei* (Raga, 1988)；*S. pontoporiae* (Raga, 1994)；*S. neotropicalis* Ebert, 2017。いずれも小型ハクジラ類の消化管、主に小腸に寄生する。この中で *S. elongatum* の形態的特徴は *S. tursionis* のそれに極めて類似している(Table 2-1)。*S. tursionis* はブラキクラディウム科のなかでも初期に記載された種で、ハンドウイルカ(*Tursiops truncatus*)から採取され *Distomum tursionis* として記載された。しかしこの原記載とその後の研究(Poirier, 1886)ともに本種の形態に関する記載は不完全で(Figure 2-1b)、本種の形態的特徴は長い間不明だった。本種の形態を現在の知見に近い形で報告したのは Hafeezullah (1986) である。Hafeezullah はアラビア海のスナメリ(*N. phocaenoides* と考えられる)から 7 隻の *S. tursionis* を採取して形態を報告した(Figure 2-1c)。その後、Fernández et al. (1994)は地中海のハンドウイルカから採取した 100 標本を用いて *S. tursionis* の詳細な形態を観察し再記載した(Figure 2-1d)。さらに Marigo et al. (2008)は *S. pontoporiae* の再記載に際し、ブラジル沿岸のハンドウイルカから採取した本種を観察した(Figure

2-1e)。Hafeezullah (1986)は *S. tursionis* と *S. elongatum* の類似性を指摘しているが、その後、両種の分類学的検討はされないまま *S. elongatum* は独立種として扱われつづけている(Fernández et al., 1994; Ebert et al., 2017)。

S. elongatum の模式標本は記載論文中では広島大学動物学研究室に保管されているとあるが、同研究室は現在解体されており、また標本そのものは第二次世界大戦の混乱により行方不明である(清水則雄准教授; 広島大学総合博物館、私信)。本研究では *S. elongatum* の模式宿主と模式産地である日本沿岸のスナメリの腸管から採取された *Synthesium* 属標本を用いた。これらを *S. elongatum* と同定したうえで、形態観察と遺伝子解析から *S. tursionis* との比較を行った。本研究の目的は *S. elongatum* が有効な種であるか確認すること、および有効であるなら *S. tursionis* との相違を見出すことである。

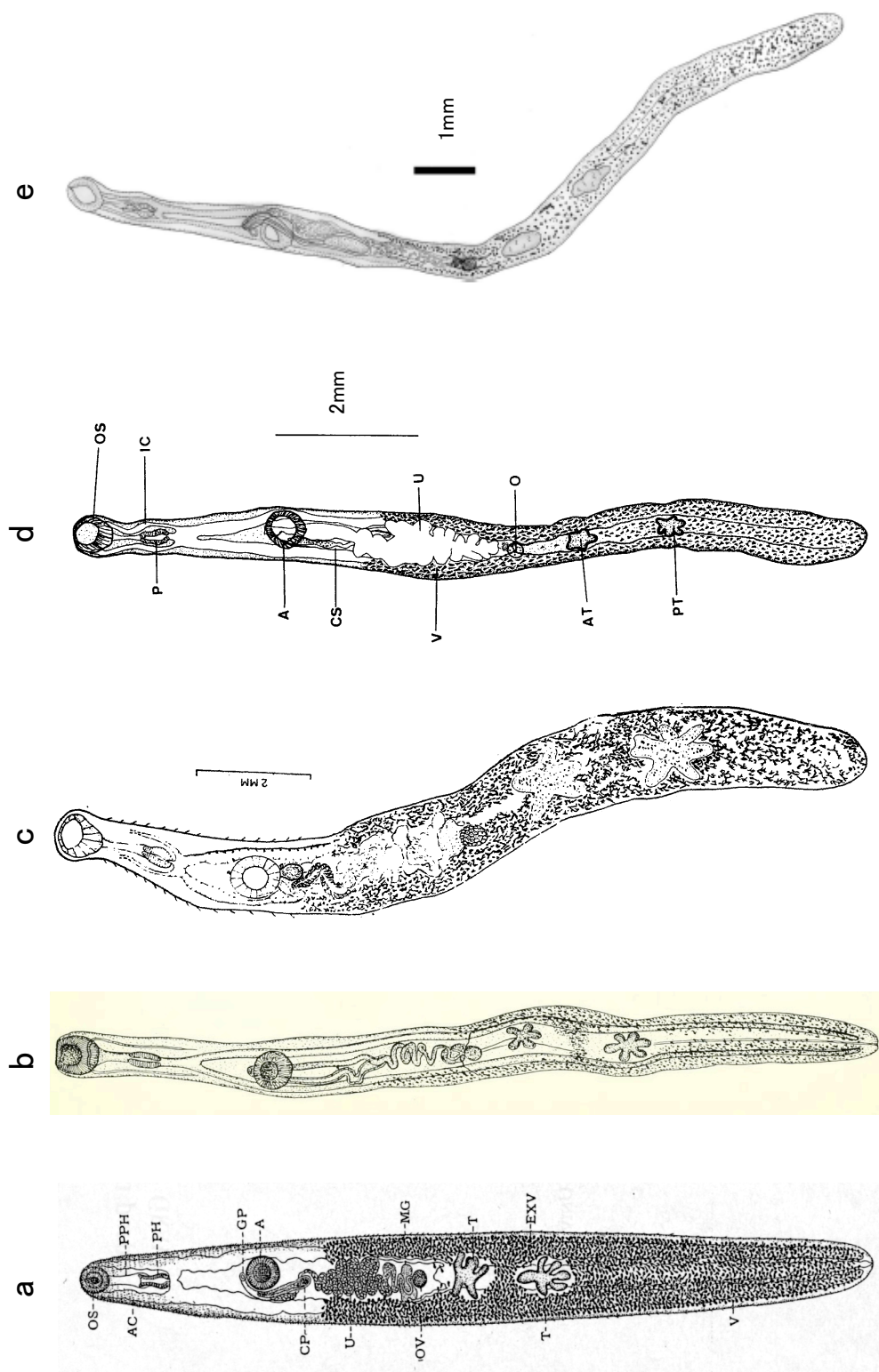


Figure 2-1. *Synthesium elongatum* および *S. tursionis* の記載で記された虫体の描画.

(a) *S. elongatum*. Ozaki (1935) の原記載から抜粋. (b) *S. tursionis*. Poirier (1886) のスケッチ. Price (1932) の総説より抜粋.
 (c) *S. tursionis*. Hafeezullah (1986) の再記載から抜粋. (d) *S. tursionis*. Fernández et al. (1994) の再記載から抜粋.
 (e) *S. tursionis*. Marigo et al. (2008) の記載から抜粋.

Table 2-1. 既報にて報告された *S. elongatum* および *S. tursionis* の形態計測値と形態的特徴.

種	<i>S. elongatum</i>	<i>S. tursionis</i>	
文献	Ozaki (1935)	Fernández et al. (1994)	Marigo et al. (2008)
標本数	記述なし	100	15
体長 [mm]	13–18	6.2–30.8 (15.3)	8.9–21.3 (14.5)
体幅 [mm]	1.0–2.1	0.39–1.5 (0.68)	0.48–0.85 (0.62)
口吸盤 [μm]	400–550	309–814 (534) × 230–728 (478)	431–722 (600) × 462–675 (554)
腹吸盤 [μm]	550–700	257–824 (504) × 233–754 (449)	400–760 (560) × 428–684 (552)
前咽頭 [μm]	500–520	0–2,191 (534)	200–789 (527)
咽頭 [μm]	450–600 × 310–350	210–615 (391) × 91–330 (197)	409–678 (526) × 185–333 (258)
咽頭の形	pear-shaped	pyriform	pyriform
腸 *	H-shaped	H-shaped	H-shaped
陰茎 *	ornamented with elaborate spines	armed	eversible with small, readily lost spines
精巢 *	irregularly lobed, 4 to 7	lobed	irregular in shape, varying from oval to lobed
頭側精巢 [μm]	undescribed	306–1,074 (636) × 174–681 (411)	409–1,093 (661) × 276–618 (345)
尾側精巢 [μm]	undescribed	341–1,100 (668) × 219–715 (422)	475–1,112 (686) × 266–589 (369)
卵巢 [μm]	200–330	93–361 (211) × 74–287 (172)	143–339 (238) × 124–247 (169)
卵巢の形	globular or slightly elongated	oval	round to oval
子宮末端部 *	smooth	unarmed	unarmed
卵黄腺の分布*	a little behind the acetabulum	level of uterine field	posterior to cirrus sac
排泄囊 *	tubular	undescribed	long, tubular
虫卵 [μm]	47–55 × 25–31	35–47 (40) × 19–27 (23)	51–55 (53) × 28–32 (29)

* 形態的特徴は原文を引用した.

試料と方法

標本

スナメリから採取した *Synthesium* 属の標本は長崎大学海棲哺乳類研究室に保管されている。その中から状態のよいホルマウント標本 31 隻とエタノール保存された虫体 4 隻を用いた。これらは 2011 年から 2016 年にかけて瀬戸内海、有明海、大村湾沿岸でストランディング、漂流または混獲により得られた 8 頭のスナメリから採取された。鯨体の発見日、場所、基礎生物学情報、および各宿主から本研究に用いた虫体数を Table 2-2 に示す。鯨体は回収後、水産庁および農林水産省に届け出た後に -25°C ~ -18°C で冷凍保存し、後日解凍して解剖した。ただし No. 8 の宿主は冷凍せずに直ちに解剖した。解剖中に腸管を摘出し、全長にわたって切開し水洗して沈渣から虫体を回収した。虫体は全身圧平標本または 70%エタノール液浸標本として保管した。圧平標本の作成には、70%エタノールまたは AFA による圧平固定を施し、アルムカーミンまたは Heidenhain の鉄ヘマトキシリンで染色した（1 章を参照）。標本番号は Appendix 2 を参照。

Table 2-2. *Synthesium* 属虫体を採取したスナメリの宿主情報と各宿主から採取し形態観察または遺伝子解析に供試した虫体の数. 漂着場所の詳細がわかっている場合は緯度経度を併記したが他機関からの提供や混獲個体では緯度経度の情報は無い.

No.	発見日	発見場所 (緯度, 経度)	体長 (cm)	体重 (kg)	性別	発見状況	供試した虫体数	
							形態	遺伝子
1	2011/11/3	福岡県京都郡苅田町 周防灘沖	114.6	22.9	メス	混獲	–	1
2	2014/2/20	大分県宇佐市乙女新田	134.4	26.6	メス	漂着	8	–
3	2015/1/8	愛媛県西条市船屋甲 (N33.935342, E133.200245)	130.2	35.0	オス	漂着	3	2
4	2015/7/7	大分県杵築市奈多海岸	168.5	58.2	メス	漂着	8	–
5	2015/12/4	熊本県上天草市松島町合津 (N32.528775, E130.428620)	145.2	39.2	メス	漂着	3	–
6	2016/1/22	長崎県西彼杵郡時津町浦郷 (N32.832803, E129.847428)	142.2	37.1	メス	漂流	8	–
7	2016/4/1	長崎県西彼杵郡時津町浦郷 (N32.832755, E129.847503)	139.8	36.6	オス	漂着	–	2
8	2016/5/17	長崎県東彼杵郡東彼杵町里郷沖	127.9	34.7	メス	混獲	1	–

形態および遺伝子解析

スナメリから得た *Synthesium* の標本を顕微鏡下で観察した。体長と体幅はデジタルノギス(digimatic caliper CD-15PSX, ミットヨ, 神奈川)で計測し、15箇所を顕微鏡カメラと画像計測ソフト(WraySpect, レイマー, 大阪)で計測した。虫体の臓器や構造がはっきり観察されない場合は関連する計測値を欠損値として扱った。

ブラキクラディウム科の種では *infrapopulation*(一宿主の体内で構成される寄生虫個体群)間で計測値やプロポーシオンに差があることが知られている(Fernández et al., 1995)。そこで 31 隻の虫体のうち、異なる 3 頭の宿主(No. 2, 4, 6)から得た虫体 24 隻について 17 項目の計測値で MANOVA を行い、*infrapopulation* 間の違いが有意であるか検定した。有意であれば、項目ごとに Kruskal-Wallis 検定を行い、どの項目に変異があるか検討した。多重比較にあたり有意水準は Bonferroni の調整を施し 0.002 とした。解析には R 3.3.4 (R Core Team, 2017)を用いた。

4 隻のエタノール固定された虫体から Isolate II Genomic DNA Kit (Bioline, ロンドン, イギリス)を用いて遺伝子を抽出した。DNA 抽出の前にサンプル中のエタノール分を 500μl の TE バッファ (0.001 M TrisHCl, pH 7.5, 0.001 M EDTA, pH 8) に置換した。ミトコンドリア NDH デヒドロゲナーゼサブユニット 3 (ND3) 配列を ND3F プライマー(5'-GCTTAATTKKTAAAGCYTTGRATTCTTACT-3') (Fernández et al., 2000)および ND3 Primer 4 (5'-CTACTAGTCCCACTCAAC(G/A)TAACC(T/C)T-3') (Fernández et al., 1998)で増幅した。PCR の温度条件は次のとおり: 95°C/5 分, 35 サイクル/95°C/30 秒, 50°C/30 秒, 72°C/50 秒, 72°C/7 分 (Fernández et al., 1998)。PCR 産物を NucleoSpin Gel and PCR Clean-up kit (Macherey-Nagel, デューレン, ドイツ)で精製し、Applied Biosystems ABI 3730 XL automated sequencer (Macrogen Inc., アムステルダム, オランダ) でシーケンシングした。コンティグを BioEdit 7.0.5.3 および Sequencher™ 5.1 で編集、アセンブルし GenBank に登録した(Accession Number は Table 2-3 を参照)。

S. elongatum の新しい配列を、GenBank に登録されたブラキクラディウム科 16 種の配列とオンライン版 Mafft (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/software/>)を用いて比較した。本科の既報の系統仮説に従い、*Tormopsolus orientalis* (Acanthocolpidae)をアウトグループとした(Fraija-Fernández et al., 2016)。JModelTest 2.1.4 を用い、赤池情報量基準(AIC)に従ってガンマ補正した Hasegawa, Kishino, Yano モデル (HKY+G+I) をアラインメントの最適モデルとした(Darriba et al., 2012)。近隣結合による推定から最尤推定法 (ML) で系統樹を作成した。初めに nearest-neighbour-interchange (NMI)、次に subtree-pruning-regrafting (SPR)、さらに tree-bisection-reconnection (TBR)に

基づくモデルパラメータを用いてトポロジーが一定になるまで発見的探索を行った。100 試行におけるブーツトラップ値を Genetic Algorithm for Rapid Likelihood Inference (GARLI 0.942)を用いて算出した(Zwickl, 2006)。ProtTest 2.4 から推定される JTT+G+F モデルを用いてアミノ酸配列データのベイズ推定を行った(Abasal et al., 2005)。1,000,000 試行と 4600 の burn-in の後に事後確率 (PP) を算出した。クレードは ML ブーツトラップ値>80%、PP>90%のときに分岐すると仮定した。シーケンス間の塩基の違いの数としてペアワイズ遺伝距離を MEGA 6 から算出した(Tamura et al., 2013)。

Table 2-3. 系統解析に使用した mtND3 遺伝子の種名, 宿主種名, 産地, および GenBank accession number. 本研究で新たに取得した配列は * を付した.

種名	宿主と産地	GenBank Accession no.
<i>Tormopsolus orientalis</i> (Outgroup)	<i>Seriola dumerili</i> (地中海)	KT180219
<i>Brachycladium</i> sp.	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (北海)	AF123439
<i>Brachycladium atlanticum</i>	<i>Stenella coeruleoalba</i> (地中海)	KT180217
<i>Brachycladium atlanticum</i>	<i>Stenella coeruleoalba</i> (地中海)	AF034551
<i>Brachycladium goliath</i>	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (北海)	KR703278
<i>Campula oblonga</i>	<i>Phocoena phocoena</i> (バルト海)	AF034554
<i>Campula oblonga</i>	<i>Phocoena phocoena</i> (北海)	KT180214
<i>Nasitrema delphini</i>	<i>Delphinus delphis</i> (カナリア諸島)	KT180216
<i>Nasitrema globicephalae</i>	<i>Globicephala melas</i> (南太平洋)	AF034557
<i>Synthesium delamurei</i>	<i>Globicephala melas</i> (地中海)	KY612255
<i>Synthesium elongatum</i>	<i>Neophocaena asiaeorientalis</i> (日本, 瀬戸内海)	MH634348 *
<i>Synthesium elongatum</i>	<i>Neophocaena asiaeorientalis</i> (日本, 瀬戸内海)	MH634349 *
<i>Synthesium elongatum</i>	<i>Neophocaena asiaeorientalis</i> (日本, 瀬戸内海)	MH634350 *
<i>Synthesium elongatum</i>	<i>Neophocaena asiaeorientalis</i> (日本, 大村湾)	MH634347 *
<i>Synthesium neotropicalis</i>	<i>Tursiops truncatus</i> (南大西洋)	KY612256
<i>Synthesium pontoporiae</i>	<i>Pontoporia blainvillei</i> (南大西洋)	FJ829472
<i>Synthesium tursionis</i>	<i>Tursiops truncatus</i> (地中海)	AF034552
<i>Synthesium tursionis</i>	<i>Tursiops truncatus</i> (地中海)	KT180218
<i>Orthosoplanchnus fraterculus</i>	<i>Enhydra lutris</i> (北太平洋)	AF034555
<i>Oschmarinella macrorchis</i>	<i>Mesoplodon carlhubbsi</i> (北太平洋)	LC326064
<i>Oschmarinella rochebruni</i>	<i>Stenella coeruleoalba</i> (地中海)	AF034556

結果

形態観察

スナメリから得られた 31 隻の観察に基づく記載を以下に、全身圧平標本の描画を Figure 2-2 に、計測値を Table 2-4 にそれぞれ示した。

全身は細長く外被に棘はない。口吸盤と腹吸盤は円く、それぞれ体前端と全長の約 1/5 の位置にある。吸盤比(口吸盤幅／腹吸盤幅)は 0.5 から 0.8。前咽頭は伸縮しやすい。咽頭は洋ナシ型。食道は非常に短い。腸盲管は H 字型で側憩室は無い。頭側腸管は口吸盤の尾側縁に達し尾側腸管は尾端に達する。精巢は縦列し、全長の 3/4 区間にある。頭側精巢は 4～5 つに分葉(31 隻のうち 77%)または凸凹(10%)または楕円型(13%)。尾側精巢は 5～7 つに分葉(71%)または凸凹(16%)または楕円型(13%)。精巢の型(分葉、凸凹、楕円)は頭側と尾側で一致している。各精巢から輸精管が伸び、二本同時に貯精囊につながる。陰茎囊は長く腹吸盤の右側または背側を通り、貯精囊、前立腺部、陰茎を含む。陰茎には棘があり長さは平均 45 μ m。卵巣は球形またはやや歪んでいる。卵巣の頭側には大きなメーリス腺がある。子宮はメーリス線と貯精囊の間でコイル状に巻き、生殖腔へ通じる。生殖腔では子宮末端部と陰茎囊が合流する。子宮末端部は無棘。生殖孔は腹吸盤の頭側近くに位置する。卵黄線は子宮の位置(32.5%)または貯精囊頭側縁の位置(67.5%)から起始し、体側部を覆い精巢より後方では左右から合一する。卵黄囊は小さく卵巣の腹側にある。虫卵は卵型、横断面は三角形、小蓋部の卵殻は厚くその対極はやや突出する。排泄囊は I 字型で総排泄孔を形成しない。

観察された形態は *S. elongatum* の原記載で述べられた主な特徴(腹吸盤が全長の 1/4 から 1/5 の位置にある、咽頭が洋ナシ型、食道がほとんどない、腸管が盲管、精巢が不規則に分葉、陰茎囊が腹吸盤より後方に伸びる、陰茎に棘がある、卵巣が卵型、卵黄腺の前端が腹吸盤より後方)と一致する。ただし今回の標本には精巢が分葉しない個体もみられた。計測値では今回の標本の体長平均値は原記載の最大値より大きく、87%の個体が原記載の最大値を上回っていた。値のバラツキが大きい前咽頭長を除き、その他の臓器計測値は今回の標本と原記載でほぼ同等で範囲も重複する。最も重複の少ない咽頭幅では今回の標本の 26%の個体が原記載のレンジに収まり、最も重複する口吸盤の幅では 58%の個体が原記載で示された範囲に収まった。体長の違いは個体の死後変化の影響と考えられ、形態的特徴が一致することからスナメリから得られたこれらの標本は

Ozaki (1935)で観察された *S. elongatum* と同一種であると同定された。これらの新規標本のうち、異なる 3 頭のスナメリから採取した 24 隻の計測値 17 項目について MANOVA を行うと違いは有意だった ($P<0.01$)。多重比較として項目ごとに Kruskal-Wallis 検定を行うと咽頭の長さのみ差は有意だった ($P<0.003$, Bonferroni 法による調整)。

本標本の形態を *Synthesium* 属他種と比べると、*S. seymouri*、*S. nipponicum*、*S. mironovi* の 3 種は卵黄腺の前端が精巣まで、*S. neotropicalis* は卵巢までである点で区別できる。*S. pontoporiae* は腹吸盤に比べ口吸盤が極端に小さい (吸盤比 1.8~3.0)。*S. delamurei* は精巣が楕円形で、*S. subtile* は咽頭が球形で精巣が楕円形であり、今回の標本とは異なる。*S. tursionis* との比較においては、卵黄線の分布(子宮~貯精囊)、精巣の形(分葉~楕円まで多様)、咽頭の形(洋ナシ型)は一致しており、吸盤比は本標本が 0.5 から 0.8 であるに対し Marigo et al. (2008)では 0.8 から 1.21 とやや今回の標本が小さいが、*S. pontoporiae* ほどの極端な差はない。その他の部位についても、精巣の位置(体長の 3/4 区間)、卵巢の形(円形)、陰茎囊の長さ(腹吸盤を越えて尾側に伸びる)などが一致している。腹吸盤の位置は、今回の標本(体長の 1/5 区間)に対して *S. tursionis* はやや後方にある(体長の 1/4 区間)とされる。計測値をみると今回の標本の体長は *S. tursionis* より大きい(Table 2-4)。吸盤と咽頭の寸法は *S. tursionis* の平均値と大きな差はなく、今回の標本の 50%以上は *S. tursionis* の計測値レンジ内に収まっていた。生殖腺(卵巢、両精巣)の寸法は他の計測値よりは重複が少ないが、重複の小さい項目(卵巢幅)で今回の標本の 9.7%、大きい項目(頭側精巣長)で 48.4%が *S. tursionis* のレンジ内にあった。

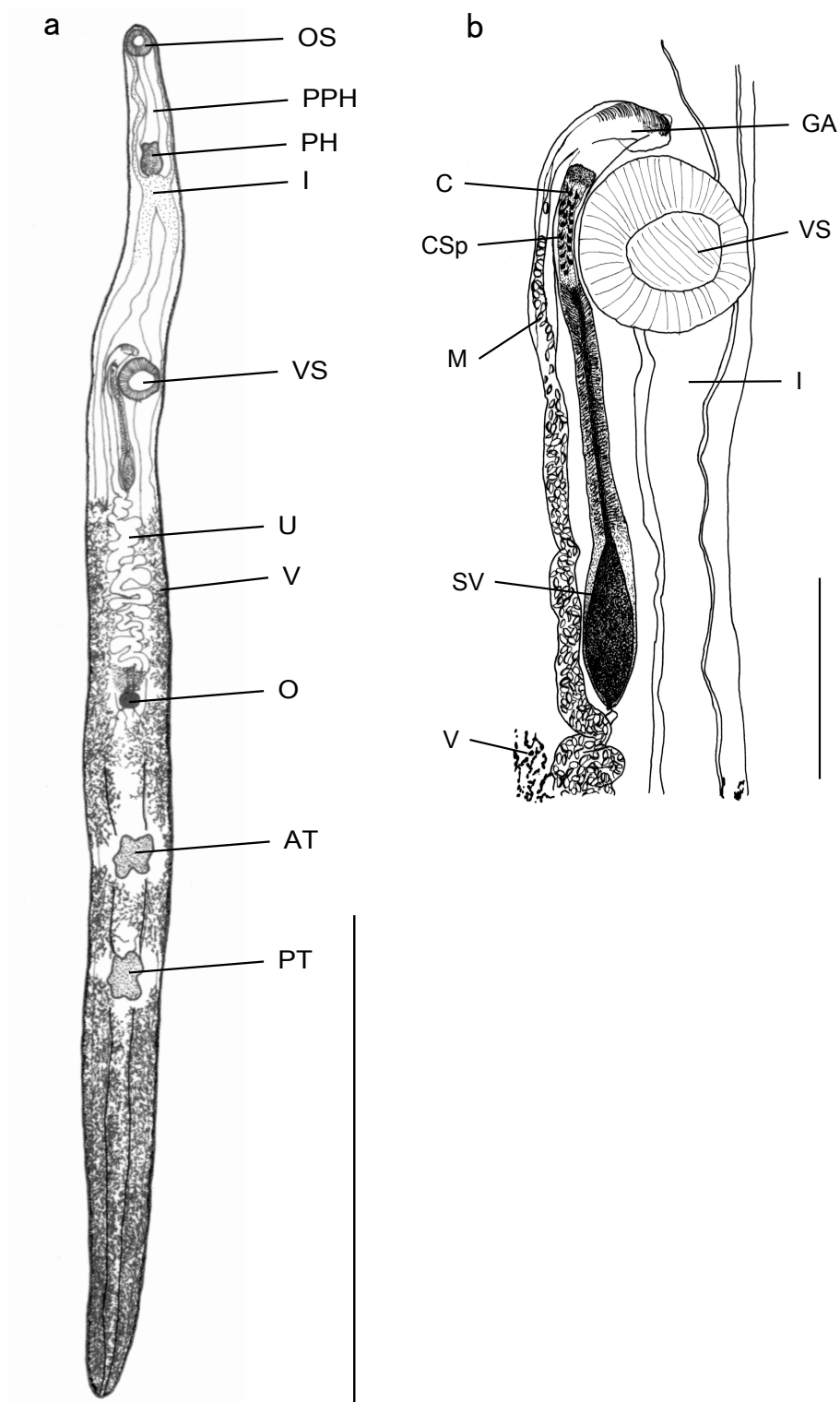


Figure 2-2. *Synthesium elongatum* の圧平染色標本 (標本番号 Dig. 164_1).

a: 全身, scale=10mm. b: 雄性生殖器, scale=1mm.

図中略称: (AT)頭側精巢 (C)陰茎 (CSp)陰茎棘 (GA)生殖腔 (I)腸管 (M)子宮
末端部 (O)卵巢 (OS)口吸盤 (PH)咽頭 (PPH)前咽頭 (PT)尾側精巢 (SV)貯精
囊 (U)子宮 (V)卵黄腺 (VS)腹吸盤.

Table 2-4. 日本沿岸のスナメリ(*Neophocaena asiaeorientalis*)から新たに採取した *S. elongatum* 標本の計測値(N=31)と既報の *S. elongatum* および *S. tursionis* の計測値との比較.

計測項目	<i>S. elongatum</i>					<i>S. tursionis</i>		
	本研究					Ozaki (1935)	Fernández et al. (1994)	Marigo et al. (2008)
	n	average	median	range	cv (%)	最小-最大	最小-最大 (平均)	最小-最大 (平均)
体長 [mm]	31	22.7	24.1	14.6 – 28.4	17.5	13–18	6.2–30.8 (15.3)	8.9–21.3 (14.5)
体幅 [mm]	31	1.4	1.4	0.73 – 1.9	20.1	1.0–2.1	0.39–1.5 (0.68)	0.48–0.85 (0.62)
口吸盤長 [μm]	31	532	544	390 – 676	15.1	–	309–814 (534)	431–722 (600)
幅 [μm]	31	471	476	324 – 650	16.8	400–550	230–728 (478)	462–675 (554)
腹吸盤長 [μm]	31	720	716	584 – 897	11.5	–	257–824 (504)	400–760 (560)
幅 [μm]	31	723	729	448 – 922	14	550–700	233–754 (449)	428–684 (552)
前咽頭 [μm]	31	989	956	357.1 – 1981.5	44	500–520	0–2,191 (534)	200–789 (527)
咽頭長 [μm]	31	542	554	403 – 678	14.6	450–600	210–615 (391)	409–678 (526)
幅 [μm]	31	324	320	222 – 410	15.3	310–350	91–330 (197)	185–333 (258)
頭側精巢長 [μm]	31	1081	1086	659 – 1555	21.6	–	306–1,074 (636)	409–1,093 (661)
幅 [μm]	31	845	836	506 – 1276	22.4	–	174–681 (411)	276–618 (345)
尾側精巢長 [μm]	31	1205	1164	701 – 1838	23.7	–	341–1,100 (668)	475–1,112 (686)
幅 [μm]	31	824	859	543 – 1183	20.5	–	219–715 (422)	266–589 (369)
卵巣長 [μm]	29	409	407	243 – 547	16.9	–	93–361 (211)	143–339 (238)
幅 [μm]	29	351	353	228 – 443	16.7	200–330	74–287 (172)	124–247 (169)
虫卵長 [μm]	31	52	52	48 – 60	5.1	47–55	35–47 (40)	51–55 (53)
幅 [μm]	31	32	33	27 – 37	8.7	25–31	19–27 (23)	28–32 (29)

遺伝子解析

4 隻の *S. elongatum* についてミトコンドリア ND3 遺伝子を部分増幅した。新しい配列の長さは 234bp から 324bp で、78 から 108 アミノ酸に相当する。最も短い配列 (GenBank Accession No. MH634350) は以降の解析から除外した。解析に使用したアラインメントは 297bp で、そのアミノ酸配列をベイズ推定に使用した。

解析した *S. elongatum* 3 隻の間の遺伝距離は 0.3% から 6.5% で、*Synthesium* 属の他種間との距離は 1.7% から 20.5% だった (Table 2-5)。最小の遺伝距離は *S. tursionis* との間で 1.7~10.6%、最大は *S. delamurei* とで 18.4~20.5% だった。*S. neotropicalis* および *S. potoporiae* との間の距離はそれぞれ 14.3%、16.7% だった。ブラキクラディウム科他属との遺伝距離は *Brachycladium atlanticum* との 18.4% から *Nasitrema globicephalae* との 25.3% であった。ML およびベイズ推定で作成したブラキクラディウム科の系統樹は類似していた (Figure 2-3)。*S. delamurei* を除く *Synthesium* 属はすべて同じクレードに含まれていた (PP=100%、ML ブーツストラップ値=95%)。*S. elongatum* の 3 つの配列は *S. tursionis* の 2 つの配列の一つを挟んで単系統の関係にあった (PP=100%、ML ブーツストラップ値=81%)。

Table 2-5. 遺伝子情報が報告されている *Synthesium* 属 5 種間の遺伝距離(上段)とその標準誤差(下段). 種名左の番号と列番号がそれぞれ対応している. 本研究で得たシーケンスは太字で示した.

種	GenBank Accession no.	1	2	3	4	5	6	7	8
1 <i>S. pontoporiae</i>	FJ829472		0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02
2 <i>S. tursionis</i>	AF034552	14.7		0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
3 <i>S. tursionis</i>	KT180218	14.3	10.9		0.02	0.02	0.01	0.01	0.01
4 <i>S. neotropicalis</i>	KY612256	4.4	11.9	14.7		0.02	0.02	0.02	0.02
5 <i>S. delamurei</i>	KY612255	17.4	19.1	18.1	16.4		0.02	0.02	0.02
6 <i>S. elongatum</i>	MH634348	14.3	10.6	1.7	14.7	18.4		0	0.01
7 <i>S. elongatum</i>	MH634349	14.7	10.6	2	14.7	18.4	0.3		0.01
8 <i>S. elongatum</i>	MH634347	16.7	10.6	6.1	14.7	20.5	6.5	6.5	

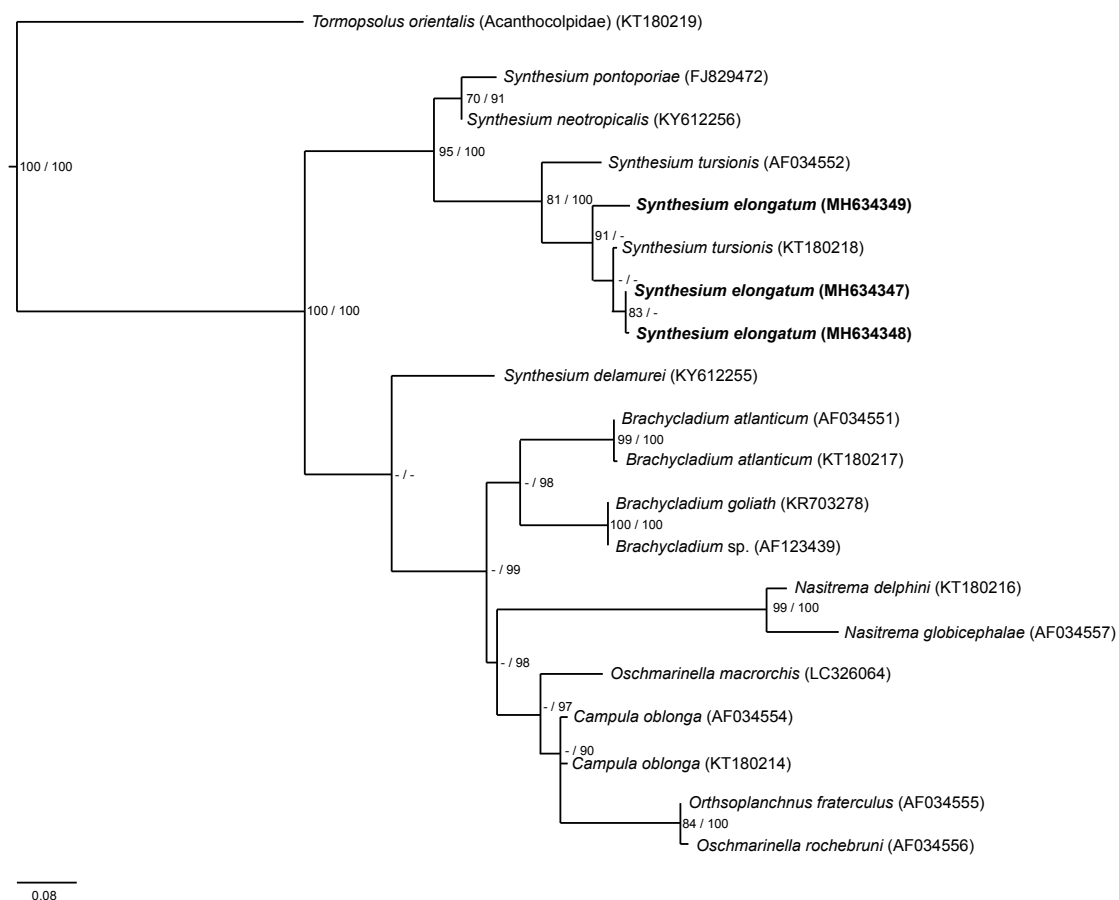


Figure 2-3. 最尤推定法によるブラキクラディウム科の系統樹 (*Tormopsolus orientalis* はアウトグループ). 本研究で得た *S. elongatum* の配列は太字で示した. 各ノードには ML ブーツストラップ値と PP を付した (それぞれ 80%以下、90%以下の場合は省略). 枝の長さは座位あたりの塩基置換数を示す.

考察

スナメリから採取された *Synthesium* 属虫体は、ほとんどの形態的特徴は Ozaki (1935) の原記載に一致していたが、精巢の形態は原記載より変異が大きい。*Synthesium* 属の他種では、*S. tursionis* や *S. pontoporiae* の精巢には大きな個体差があり、分葉型から楕円型、卵型などの変異がある (Fernández et al., 1994; Marigo et al., 2008)。*S. elongatum* の原記載では観察した標本の数が記されておらず精巢の個体変異の程度は不明であり、今回の標本で見られた精巢形態は個体変異の可能性がある。ブラキクラディウム科の計測値を解釈する際は *infrapopulation* 間の変異に留意しなければならない (Fernández et al., 1995)、今回の標本ではこの変異はわずかであった。異なる宿主から得た 31 隻の標本の計測値について原記載と比較すると、今回の標本は体長が原記載よりも大きい。原記載で用いられた標本は採取当時は生きていたと記されているが、今回用いた標本の多くは一度冷凍された宿主から得たため鮮度に劣る。*Synthesium* 属は体長が薄く伸縮しやすいため、体長の違いは虫体の死後変化に伴う弛緩の影響と考えられる。宿主の種、産地、形態的特徴が一致することから、本研究で用いたスナメリ由来の標本は Ozaki (1935) にて記載された *S. elongatum* と同種であると判断した。

S. elongatum と *S. tursionis* を比較すると、形態的な特徴である臓器の位置や形に違いはなく、計測値も虫体の弛緩・収縮の程度の差を考慮すると、顕著な差はない (Table 2-4)。吸虫の種間比較を行う際には、標本化の手順や手技、作成者の技量によって標本の形が大きく変わりうるという点に注意しなければならない (Gibson, 1984; Cribb and Bray, 2010)。特に鯨類の吸虫はストランディングや混獲した個体からしか得られないため、虫体の鮮度は宿主の状態に大きく左右される。そのため本研究では分子生物学的手法に重点を置き、2 つの種を比較した。

遺伝子解析の結果からはこの 2 種間で種の違いに相当する差は見られなかった。ミトコンドリア ND3 遺伝子の塩基配列には *S. elongatum* と *S. tursionis* で 1.7~10.6% の相違がある。ブラキクラディウム科、とくに *Synthesium* 属のなかで異種とされるもの同士の塩基配列の相違はこれより大きく、例えば *S. tursionis* と *S. pontoporiae* では 17.8%、*S. tursionis* と *S. neotropicalis* では 14.0% の違いがある (Ebert et al., 2017)。また最尤推定法またはベイズ推定で作成した系統樹のどちらも、*S. elongatum* と *S. tursionis* はそれぞれで単系統を作らなかった。これらの結果は 2 種が同じ種であると判断する根拠となり、*S. elongatum* は *S. tursionis* のシノニムということになる。

S. tursionis はこれまで地中海、黒海、西太平洋、東太平洋の各地から発見報告のある汎存種である (Hafeezullah, 1986; Mignucci-Giannoni et al., 1998; Aguilar-Aguilar et al., 2001; Marigo et al., 2010; Quiñones et al., 2013; Romero et al., 2014)。検出記録はハ

ンドウイルカで多いが、ハシナガイルカ(*Stenella longirostris*)やギアナコビトイルカ(*Sotalia guianensis*)でも報告があり、また Fernández et al. (1994)による本種の再記載以前に遡ればハナゴンドウ(*Grampus griseus*)やチリイロワケイルカ(*Cephalorhynchus eutropia*)、コハリイルカ(*Phocoena spinipinnis*)でも報告がある(Zam et al., 1971; Torres et al., 1992)。これらの中には、現在の本属に関する知見から鑑みれば誤同定の可能性を含むものも多数ある。例えば *S. neotropicalis* は 2017 年になって新種記載されたが、本種の形態も *S. tursionis* とよく似ており形態的な違いは卵黄腺の頭側縁が子宮領域に達しないという一点で、遺伝子解析によって別種と認められた(Ebert et al., 2017)。*Synthesium* 属では *S. seymouri*、*S. nipponicum*、*S. mironovi* の 3 種も卵黄腺の位置が重要な同定基準だが、これらの卵黄腺は精巢位までしかなく、*S. neotropicalis* よりはるかに特徴的である。すなわちこれまでに *S. tursionis* と同定された標本が実際は *S. neotropicalis* であった可能性はある。本研究によって *S. tursionis* の分布域と宿主域に日本沿岸とスナメリ *Neophocaena asiaeorientalis* が追加されるとともに、本種の広大な分布域（少なくとも地中海から東アジア沿岸）と広い宿主域（マイルカ科のハンドウイルカとネズミイルカ科のスナメリ）が改めて確認された。

3 章 *Halocercus* 属肺線虫の幼獣宿主への移行経路の推定

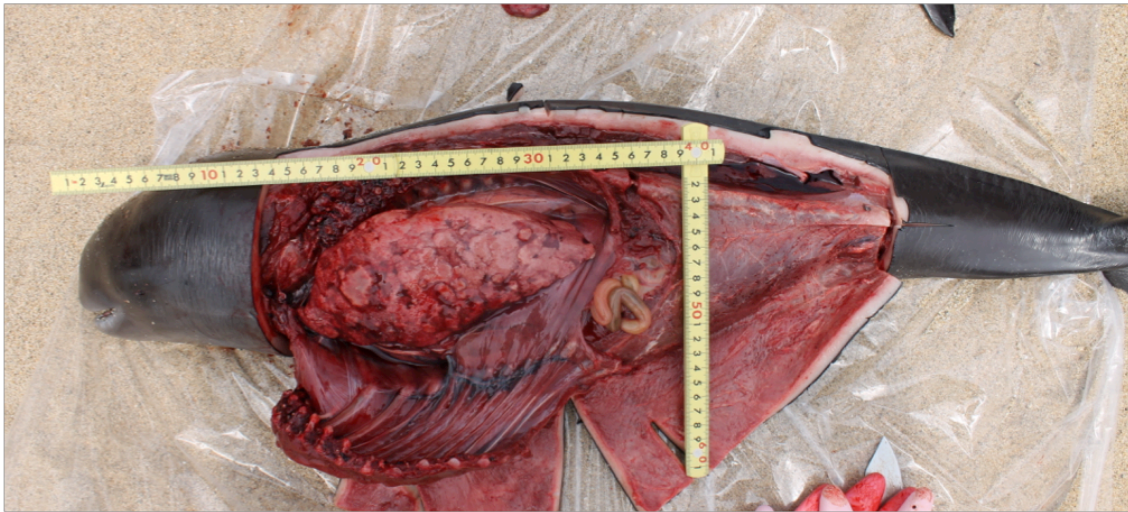
背景

Halocercus 属はシューダリウス科(Pseudaliidae)の線虫で、小型ハクジラ類の肺に寄生する。その一種である *H. pingi* は、スナメリの幼獣に高頻度に寄生しており、母獣から垂直感染していると考えられる(1 章)。垂直感染の経路には胎盤、母乳、海水が候補として挙げられるが、そのいずれなのかは検証されていない。肺線虫による肺炎は野生化でのスナメリの死因として高い割合を占めており(Parsons and Jefferson 2000; Parsons et al., 2001)、その感染経路の特定は寄生生態の理解だけでなくスナメリの保護や繁殖においても重要な知見となる。

スナメリの出生体長は個体群によって異なるが、おおよそ 70~80cm と推定されている(Shirakihara et al., 1993; Jefferson and Hung, 2004)。1 章で調査したスナメリでは最小で 68.6cm の幼獣に *H. pingi* の寄生がみられ、また慢性的な寄生を示唆する、広範囲に及ぶ肺の結節化(Figure 3-1a)が複数の幼獣検体で見られた。これらに寄生していた *H. pingi* の子宮には卵ではなく仔虫がおり(Figure 3-1b)、仔虫あるいは成虫が母獣から胎仔へと移動し、自家感染を起こした可能性が強く示唆される。

そこで本研究ではより確実な経胎盤感染の証拠を得るため、スナメリ胎仔の剖検を行った。経胎盤感染と自家感染を起こしている場合、胎仔肺には *H. pingi* の仔虫と成長した虫体が見られるはずである。西日本沿岸でストランディングまたは混獲されたスナメリのうち、妊娠母獣から胎仔を摘出して解剖し、肺に仔虫または成虫がいるかどうか確認した。

a.



b.



Figure 3-1. スナメリの幼獣における *Halocercus pingii* 線虫の重篤寄生例. 2014 年 6 月 3 日, 三重県津市, 宿主体長 87cm, 雌.

a. 広範囲で結節化した肺.

b. 同宿主の肺から摘出した *H. pingii* 雌成虫. 矢印: 子宮内の仔虫.

試料と方法

H. pingi の検索にあたり、まず仔虫の形態を確認した。1 章で採取、同定した *H. pingi* 標本から状態の良い虫体を選出し、雌虫体を解剖して子宮内の仔虫を観察した。

2013 年から 2017 年にかけてストランディング・混獲されたスナメリのうち、妊娠個体は 4 頭あり、そのうち死後変化が進行していない個体は 3 頭あった。母獣および胎仔の情報を Table 3-1 に示す。母獣は 1 章の調査に用いた個体であり、肺線虫の有無についても Table 3-1 に示した。胎仔は子宮から取り出した後、母獣と同時に解剖するか、-18℃で再冷凍して後日に解剖した。気管支および肺を摘出した後、気管を肺深部まで切開して実体顕微鏡下で観察した。

Table 3-1. 胎仔検体が得られた母獣の漂着に関する情報と生物学情報および胎仔検体の生物学情報.

No.	発見日	発見場所	発見 状況	母獣			胎仔		
				体長 (cm)	体重 (kg)	肺線虫の有無	体長 (cm)	体重 (g)	性別
1	2013/2/7	愛媛県四国中央市川之江町	漂着	159.8	65.8	<i>Halocercus sunameri</i> 2隻 線虫断片 少数	34	580	雄
2	2014/1/7	長崎県南島原市布津町 (N32.67217101, E130.34398801)	漂着	159.8	43.76	線虫断片 少数	59.5	2920	雌
3	2016/1/22	長崎県西彼杵郡時津町浦郷 (N32.832803, E129.847428)	漂着	142.2	37.08	線虫断片 少数	38.9	935.3	雌

結果

H. pingi の仔虫は子宮内では直径約 50 μ m に丸まり、伸ばすと長さ約 250 μ m であった。頭部は円く体型はほぼ一様に細長い、尾端のおよそ 10 μ m 程度が急激に細く針状になっていた。一般的な線虫幼虫の体制、体表のクチクラ層や口器、食道などの内部構造は観察できるが、死後変化の進んだ虫体や固定により収縮した虫体では内部構造はほとんど見えなかった。

3 頭の胎仔の肺を観察したが、どの個体からも *H. pingi* の仔虫および成虫は発見されなかった。

考察

Halocercus 属の鯨類幼獣への寄生はシャチ(*Orcinus orca*)、オウギハクジラ属の一種(*Mesoplodon* sp.)、マイルカ(*Delphinus delphis*)、ハンドウイルカ(*Tursiops truncatus*)でも報告されており、線虫は前二者では *Halocercus* sp.、後二者では *H. lagenorhynchi* と同定されている(Moser and Rhinehart, 1993; Dailey et al., 1991; Fauquier et al., 2009; Tomo et al., 2010; Reckendorf et al., 2018)。これらの鯨種でも垂直感染が予想されている一方、鯨類の胎仔における肺線虫寄生に関する調査は少ない。Moser and Rhinehart (1993)はネズミイルカ(*Phocoena phocoena*)の妊娠個体 1 頭を調査し、母獣では *H. invaginatus* の寄生を認めたがその胎仔には寄生がなかったと報告している。今回の調査でも胎仔の肺で *H. pingi* 寄生は確認できなかったため、本種は乳汁等を介して出生後に感染すると予想される。スナメリの傷病個体の救護や人工繁殖を行う上で、*H. pingi* の感染源である母乳の検査は必須だろう。

海棲哺乳類の寄生蠕虫で生活史がわかっているものはわずかだが、アザラシ鉤虫 *Uncinaria lucasi* (鉤虫科 Ancylostomatidae)は乳汁による垂直感染をする線虫である(Olsen and Lyons, 1965)。本種は鰭脚類の仔獣を固有宿主とし、その腸管内で成熟し産卵する。虫卵は外界で孵化し、幼虫は土壤中で自由生活を送り発育する。第三期幼虫(感染態幼虫)になると、土壌から成獣に、主に胸鰭から経皮感染して脂皮や乳腺に潜伏する。この成獣が妊娠し出産すると乳汁から排出され仔獣に移行する。線虫は仔獣の腸内で急速に成熟するが数ヶ月で死滅し、成獣の腸管にはこの線虫は見られない。*H. pingi* は寄生部位こそ違うが、成獣では見られず幼獣でのみ成虫が見られるという点は似ている。このような生活史をもつ線虫は羊や馬に寄生する他の科にも存在する(Lyons, 1994)。*U. lucasi* の生活史を *H. pingi* に当てはめるなら、*H. pingi* は仔獣の肺でのみ成熟して出産し、噴気や糞によって外界に排出された仔虫は成獣に寄生して組織内に潜伏し、宿主が出産すると乳汁から新生仔に移行する、という生活史が想像される。固有宿

主である仔獣から別の宿主へ伝播するには水や堆積物を介するものと考えられる。スナメリはハゼ科魚類やコウイカ類、タコ類など底生生物も餌とすることから(Shirakihara et al., 2008)、成獣が摂餌の際に堆積物中の仔虫と接触している可能性は考えられる。

スナメリの肺線虫には他に *H. sunameri* がおり、こちらは成獣で幼獣よりも高頻度に見られることから餌生物によって媒介されと考えられる。*H. sunameri* の体長は雄で 22~32mm、雌で 35~96mm であるのに対し、*H. pingi* は雄で体長 150~183mm、雌で 255~364mm と凡そ 10 倍に達する(Yamaguti, 1951b; Wu, 1929)。この線虫の大きさの違いには、宿主となる成獣と幼獣の免疫力の違いが関与している可能性が高い。あるいは、別の宿主への伝播に餌生物を利用する *H. sunameri* よりも、*H. pingi* は他個体へ伝播する効率が低いために大型・多産化したとも推察される。

総合考察

既報と本研究を合わせると日本近海のスナメリには蠕虫類 16 種と蔓脚類 1 種の寄生が確認されている。各種はスナメリの体内あるいは体表で Figure 4-1 のように分布する。このうち 4 種は本研究では見つかっていない。蠕虫類 16 種のうち複数の寄生例が確認され、かつ寄生数の多い種は 8 種(*Pharurus asiaeorientalis*、*P. sunameri*、*Nasitrema spathulatum*、*Na. sunameri*、*Halocercus pingi*、*H. sunameri*、*Campula oblonga*、*Synthesium tursionis*)である。これらが日本沿岸のスナメリにおける主要な寄生虫であり、その地理的分布は Figure 4-2 のようになる。

頭蓋洞には主要寄生蠕虫の半数が寄生する。他の鯨種の頭蓋洞にも線虫または吸虫は寄生しており、例えばスナメリと同じネズミイルカ科のネズミイルカ(*Phocoena phocoena*)では別の線虫 2 種(*Stenurus minor*、*Torynurus convolutus*)が(Dailey and Stroud, 1978; Slob et al., 1996; Gibson et al., 1998; Wunschmann et al., 2001)、イシイルカ(*Phocoenoides dalli*)にも別の線虫 3 種(*St. truei*、*St. yamagutii*、*P. dalli*)と吸虫 1 種(*Na. dalli*)の寄生がみられる(Yamaguti, 1951a; Kuramochi et al., 1990)。頭蓋洞の寄生蠕虫にはある程度の宿主特異性があると考えられ、上記 4 種もこれまでスナメリでしか報告されていない。4 種の寄生は成獣にのみ見られ、その生活史には何らかの中間／待機宿主の存在が示唆される。頭蓋洞は他の哺乳類の中耳腔に相当し、耳管を介して鼻道と連続しているため、蠕虫類は餌生物を介して体内に入った後、食道を上行し咽頭、喉頭、鼻道、耳管を経て頭蓋洞に寄生するものと考えられる。どの種も中間宿主は特定されていないが、1 頭の宿主に全てが寄生することからスナメリの日和見的な食性が複数種の共寄生を成立させていると考えられる。しかし *Na. spathulatum* は太平洋に面する個体群には分布していない(Figure 4-2 b)。これは伊勢・三河湾以東において本種の中間宿主が分布しないためと考えられる。あるいはスナメリ属全体の遺伝的多様性を比較した研究(Lin et al., 2017)では、東アジアにおいてスナメリの遺伝的障壁は韓国から日本と瀬戸内海から伊勢・三河湾で大きいとされている。伊勢・三河湾と仙台湾～東京湾個体群は瀬戸内海以西の個体群に比べ他個体群との交流が少ない、あるいは個体群の成立時期が他と異なる可能性があり、そのため同海域に *Na. spathulatum* が進出していないためとも考えられる。

成獣の肺には *H. sunameri* が、離乳前の幼獣の肺には *H. pingi* が寄生する。前者は餌生物を介して寄生し、後者は母子間で経乳感染すると考えられる。*H. sunameri* はスナメリでしか記録がないが *H. pingi* は香港のシナウスイロイルカ(*Sousa chinensis*)からも見ついている(Parsons and Jefferson, 2000; Parsons et al., 2001)。ただしその寄生頻度はスナメリの 10 分の 1 であり、また香港ではスナメリおよびニシスナメリと

シナウスイロイルカが同所的に生息するため *H. pingi* の本来の固有宿主はスナメリであると考えられる。肺線虫は他のハクジラ類でも報告されているが、幼獣から成獣にかけて種の入替わりが確認されているのはスナメリのみである。生態が大きく異なる2種の存在は、沿岸環境では水棲哺乳類の寄生蠕虫の生態が多様化しやすいことを示している。

肝臓には *C. oblonga* が寄生する。鯨類の寄生蠕虫の生活史はごく一部の種を除いて全くわかっていないが、吸虫類については他の種で見られるように軟体動物、特に頭足類を中間宿主にすると推定されており(Gibson et al., 1998)、*C. oblonga* については魚類も関与することが示唆されている(Adams et al., 1998)。さらに本種は北半球のほぼ全域で見つかっており、宿主は主にネズミイルカとイシイルカでマイルカ(*Delphinus delphis*)とハンドウイルカ(*Tursiops truncatus*)からも報告がある(Zam et al., 1971; Smith and Threlfall, 1973; Dailey and Stroud, 1978; Conlogue et al., 1985; Gibson et al., 1998; Adams et al., 1998; Wunschmann et al., 2001; Siebert et al., 2006)。広範囲に分布し沿岸性のスナメリから外洋性のイシイルカも宿主とすることから、本種はさまざまな魚類、頭足類を中間宿主または待機宿主とする可能性が高い。スナメリでは大村湾個体群でのみ寄生頻度が低い(Figure 4-2 a)。Shirakihara et al. (2008)は大村湾と有明海・橘湾個体群の食性を比較し、前者では魚が、後者では魚類と頭足類が主な餌生物になっていると報告した。*C. oblonga* の中間宿主や待機宿主が具体的に何であるかは不明だが、後者については頭足類を捕食できる、ある程度の中大型魚類と予想される。大村湾で *C. oblonga* の寄生頻度が低いのは、中間宿主である頭足類の捕食頻度が低く、かつ待機宿主にならない小型魚類を多く捕食するためと考えられる。

腸には *Sy. tursionis* が寄生し、本種も地中海、大西洋、東西太平洋、インド洋と広い範囲から報告されており、主にハンドウイルカに寄生する(Zam et al., 1971; Hafeezullah, 1986; Torres et al., 1992; Mignucci-Giannoni et al., 1998; Aguilar-Aguilar et al., 2001; Marigo et al., 2010; Quiñones et al., 2013; Romero et al., 2014)。上述の *C. oblonga* と本種の両方が高頻度に寄生するのは報告されている限りスナメリのみである。また仙台湾～東京湾では唯一、*Corynosoma* 属鉤頭虫の寄生が見られる(Figure 4-2 c)。*Corynosoma* 属の多くは鰭脚類や海鳥を固有宿主とし鯨類に寄生するものは少ない(Yamaguti, 1963)。アラスカのネズミイルカから記載された *C. alaskens* はその一つで、スナメリから見つかる種と形態的に類似する。ネズミイルカや鰭脚類が多数生息する北太平洋に最も近い仙台湾～東京湾個体群で *Corynosoma* 属鉤頭虫が高頻度に見つかることは、これらの海棲哺乳類もしくはその餌生物の餌資源が部分的に重複することを示唆している。

Pharurus 属、*Nasitrema* 属の各 2 種は非常に寄生頻度が高く、スナメリへの寄生に高度に適応していると考えられるが、その種分化が頭蓋洞内という狭い空間で起きたとは考えにくい。それぞれ違う鯨種や地理的に離れた場所で種分化したものが日本沿岸で同所的に分布するようになったと推測される。これらの蠕虫の地理的遺伝的変異から、スナメリ属の適応放散の過程を推測できるかもしれない。また鯨類寄生蠕虫の一大グループであるブラキクラディウム科は、鯨類の水中適応の過程で魚類寄生種から宿主転換したと考えられており (Fraija-Fernández et al., 2015)、本科とその宿主の共進化は鯨類の進化史の理解に大きく寄与するテーマである (Fraija-Fernández et al., 2016)。日本沿岸のスナメリは本科の代表的な汎存種である *C. oblonga* と *Sy. tursionis* の両方が寄生する点で特異であり、本テーマにとって重要な海域、鯨種といえるだろう。

鯨類の寄生蠕虫には寄生虫性疾患を起こすものが知られている。肺線虫は複数の鯨種で肺炎を起こすことが報告されており、*H. pingi*、*H. sunameri* ともにスナメリへの病原性が報告されている (Parsons and Jefferson, 2000; Parsons et al., 2001; 鈴木ら, 2017)。肝吸虫はネズミイルカやイシイルカで胆管炎を起こすことが知られており (Jauniaux et al., 2002; Jaber et al., 2004; Siebert et al., 2006)、本研究でも肝臓に *C. oblonga* による結節が生じた宿主が散見された。個体群や成長段階によってこれらの寄生頻度が異なる点は、スナメリの個体救護や保全を行う上で留意すべき知見だろう。また *Nasitrema* 属吸虫は神経に侵襲して聴覚障害や髄膜炎を起こし、鯨類の生存座礁 (ライブストランディング) の一因ともされる (Morimitsu et al., 1987; O'Shea et al., 1991; Phillips and Suepaul, 2017)。鉤頭虫は宿主の腸管壁に頭部を穿入するため、大量寄生によって腸管の炎症や出血を起こすことが鯨類や鰭脚類で報告されている (菊池・中島, 1993; Ito et al., 1998)。これらの寄生蠕虫の病原性はスナメリでは調査されていない。感染源となる中間宿主の特定、病原性の確認、各寄生虫がスナメリという種あるいは個体群に与える保全学的影響の追跡調査が必要である。

日本沿岸のスナメリ寄生蠕虫相に対し、Wan et al. (2017) は黄海／渤海のスナメリを調査して本研究では見つかっていない *Anisakis pegreffii* や *Synthesium seymouri* が高頻度で見つかったと報告している。さらに過去の研究では大陸沿岸のスナメリ属から *Stenurus nanjingensis* や *St. auditivus* といった本研究では稀、あるいは未発見の種が記載されている (Hsü and Hoeppli, 1933; Tao, 1983)。大陸と日本列島の間には日本の個体群間よりも大きな寄生蠕虫相の違いがあると予想される。これらの調査が進めば、スナメリ属の生態や分類、進化史の解明における有用な知見になるだろう。

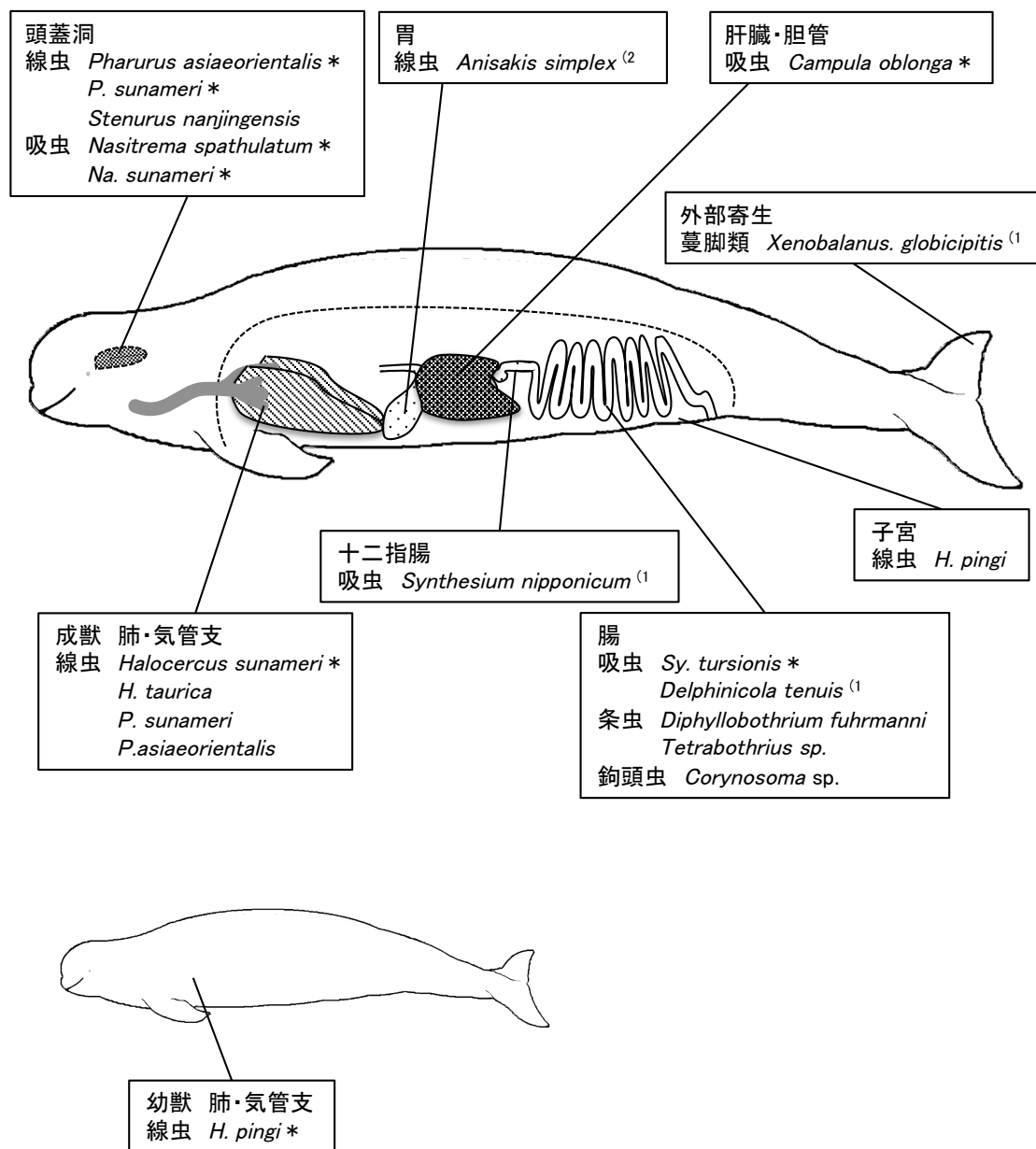


Figure 4-1. 日本沿岸におけるスナメリ(*Neophocaena asiaeorientalis sunameri*)の寄生虫.
各部位で高頻度に見られる種には*を付した.

(1: 本研究では未発見, Kuramochi et al. (2000)にて報告あり.

(2: 本研究では未発見, Kuramochi et al. (2001)にて報告あり.

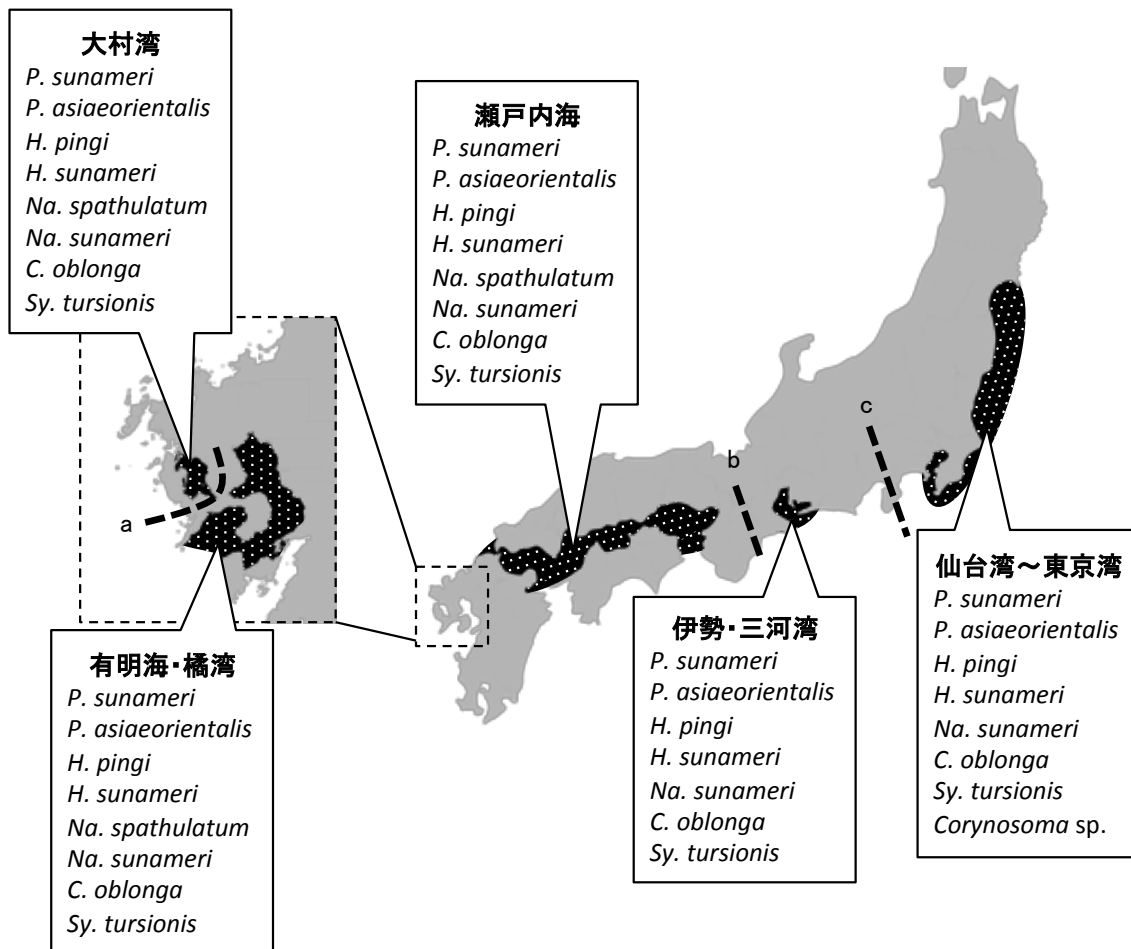


Figure 4-2. 日本沿岸におけるスナメリの主要な寄生蠕虫の分布. 地図中の破線 a, b, c は寄生蠕虫相に変化が生じる境界を示す.

- a. *C. oblonga* の寄生頻度は大村湾で低い.
- b. *Na. spathulatum* は伊勢・三河湾以東で不在.
- c. *Corynosoma* sp. は仙台湾～東京湾でのみみられる.

謝辞

本研究の遂行にあたり、終始多大な御指導をいただいた長崎大学水産学部 天野雅男教授に篤く御礼申し上げます。

本稿をまとめるにあたり、多大なご助言とご校閲をいただいた長崎大学水産学部 阪倉良孝教授ならびに長崎大学水産学部 和田実教授に深く御礼申し上げます。

本研究で漂着鯨類の回収にご協力いただいた以下の機関と解剖調査に参加された研究員、学生、スタッフの皆様に御礼申し上げます。

- ・ アクアワールド茨城県大洗水族館
- ・ 愛媛大学沿岸環境科学研究センター
- ・ 大分マリーナパレス水族館 うみたまご
- ・ 大阪市立自然史博物館
- ・ 九十九島パールシーリゾート水族館海きらら
- ・ 熊本大学大学院自然科学教育部
- ・ 国立科学博物館動物研究部
- ・ 佐賀県立宇宙科学館
- ・ 銚子海洋研究所
- ・ 鳥羽水族館
- ・ 豊橋市自然史博物館
- ・ マリンワールド海の中道
- ・ 三重大学ウミガメ・スナメリ調査・保全サークル かめっぷり
- ・ 三重大学生物資源学部魚類増殖学研究室
- ・ 南知多ビーチランド水族館
- ・ わくわく海中水族館シーダーナツ

最後に、多くのご助言、ご協力をいただいた長崎大学水産学部海棲哺乳類研究室の皆様、経済面で多大な負担をかけつつも常に支えてくださった親族に、心より御礼申し上げます。

Appendix 1.

1 章で用いた標本の登録番号(NU_MMRL_Parasite_Collection).

線虫類: Nem.2~21, 24, 28~31, 33~44, 46, 47, 50~91, 96~100, 104~114, 118~125, 128,
129, 132, 133, 136~193, 195~207, 213

吸虫類: Dig.4~13, 18~20, 22~24, 28~40, 42~53, 56~58, 72~83, 88, 89, 91, 92, 95~124,
127~132, 135~149, 151, 152

条虫類: Ces.1, 9, 69, 71

鉤頭虫類: Aca.3

Appendix 2.

2 章で用いた標本の登録番号(NU_MMRL_Parasite_Collection).

Dig. 93_3, 9, 10, 14, 15, 16; 94_13, 15; 142_7, 9, 10; 156_2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10; 164_1;
171_1; 172_5; 173_2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10

引用文献

- Abascal, F., Zardoya, R., and Posada, D. (2005). ProtTest: selection of best-fit models of protein evolution. *Bioinformatics*, 21, 2104-2105.
- Adams, A. M., and Rausch, R. L. (1989). A revision of the genus *Orthosplanchnus* Odhner, 1905 with consideration of the genera *Odhneriella* Skriabin, 1915 and *Hadwenius* Price, 1932 (Digenea: Campulidae). *Canadian Journal of Zoology*, 67, 1268-1278.
- Adams, A. M., Hoberg, E. P., McAlpine, D. F., and Clayden, S. L. (1998). Occurrence and morphological comparisons of *Campula oblonga* (Digenea: Campulidae), including a report from an atypical host, the thresher shark, *Alopias vulpinus*. *The Journal of Parasitology*, 84, 435-438.
- Aguilar-Aguilar, R., Moreno-Navarrete, R. G., Salgado-Maldonado, G., and Villa-Ramírez, B. (2001). Gastrointestinal helminths of spinner dolphins *Stenella longirostris* (Gray, 1828) (Cetacea: Delphinidae) stranded in La Paz Bay, Baja California Sur, Mexico. *Comparative Parasitology*, 68, 272-274.
- Anderson, R. C. (2009). Strongylida Metastrongyloidea. In Keys to the nematode parasites of vertebrates: archival volume. (R. C. Anderson, A. G. Chabaud, and S. Willmott, eds.). CAB International, Wallingford, U.K., pp178-217.
- Arnold, P. W., and Gaskin, D. E. (1975). Lungworms (Metastrongyloidea: Pseudaliidae) of harbor porpoise *Phocoena phocoena* (L. 1758). *Canadian Journal of Zoology*, 53, 713-735.
- Balbuena, J. A., Aspholm, P. E., Andersen, K. I., and Bjørge, A. (1994). Lung-worms (Nematoda: Pseudaliidae) of harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) in Norwegian waters: patterns of colonization. *Parasitology*, 108, 343-349.
- Barros, N. B., Jefferson, T. A., and Parsons E. C. M. (2002). Food habits of finless porpoises (*Neophocaena phocaenoides*) in Hong Kong waters. *Raffles Bulletin of Zoology Supplement*, 10, 115-123.
- Berta, A. (2016). 世界のクジラ・イルカ百科図鑑. (山田格 監修, 黒輪篤嗣 訳). ISBN 9784309253343, 河出書房新社.
- Conlogue, G. J., Ogden, J. A., and Foreyt, W. J. (1985). Parasites of the Dall's porpoise (*Phocoenoides dalli* True). *Journal of Wildlife Diseases*, 21, 160-166.
- Cribb, T. H., and Bray, R. A. (2010). Gut wash, body soak, blender and heat-fixation: approaches to the effective collection, fixation and preservation of

- trematodes of fishes. *Systematic Parasitology*, 76, 1-7.
- Dailey, M., and Stroud, R. (1978). Parasites and associated pathology observed in cetaceans stranded along the Oregon coast. *Journal of Wildlife Diseases*, 14, 503-511.
- Dailey, M., Walsh, M., Odell, D., and Campbell, T. (1991). Evidence of prenatal infection in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) with the lungworm *Halocercus lagenorhynchi* (Nematoda: Pseudaliidae). *Journal of Wildlife Diseases*, 27, 164-165.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., and Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9, 772.
- Devaraj, M., and Bennet, S. P. (1974). Occurrence of *Xenobalanus globicipitis* (Steenstrup) on the finless black porpoise, *Neomeris phocaenoides* in Indian seas. *Indian Journal of Fisheries*, 21, 575-579.
- Ebert, M. B., Müller, M. I., Marigo, J., Valente, A. L., Cremer, M. J., and da Silva, R. J. (2017). A new *Synthesium* species (Digenea: Brachycladiidae) from the bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* (Cetacea: Delphinidae) in Southwestern Atlantic waters. *Parasitology Research*, 116, 1443-1452.
- Fauquier, D. A., Kinsel, M. J., Dailey, M. D., Sutton, G. E., Stolen, M. K., Wells, R. S., and Gulland, F. M. D. (2009). Prevalence and pathology of lungworm infection in bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* from southwest Florida. *Diseases of Aquatic Organisms*, 88, 85-90.
- Fernández, M., Balbuena, J. A., and Raga, J. A. (1994). *Hadwenius tursionis* (Marchi, 1873) n. comb. (Digenea, Campulidae) from the bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821) in the western Mediterranean. *Systematic Parasitology*, 28, 223-228.
- Fernández, M., Balbuena, J. A., Pertusa, J. F., and Raga, J. A. (1995). Biometric variability of *Hadwenius tursionis* (Marchi, 1873) (Digenea, Campulidae) from the intestine of the bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821). *Systematic Parasitology*, 30, 67-76.
- Fernández, M., Aznar, F. J., Latorre, A., and Raga, J. A. (1998). Molecular phylogeny of the families Campulidae and Nasitremitidae (Trematoda) based on mtDNA sequence comparison. *International Journal for Parasitology*, 28, 767-775.

- Fernández, M., Aznar, F. J., Raga, J. A., and Latorre, A. (2000). The origin of *Lecithodesmus* (Digenea: Campulidae) based on ND3 gene comparison. *Journal of Parasitology*, 86, 850–852.
- Fraija-Fernández, N., Olson, P. D., Crespo, E. A., Raga, J. A., Aznar, F. J., and Fernández, M. (2015). Independent host switching events by digenean parasites of cetaceans inferred from ribosomal DNA. *International Journal for Parasitology*, 45, 167-173.
- Fraija-Fernández, N., Aznar, F. J., Fernández, A., Raga, J. A., and Fernández, M. (2016). Evolutionary relationships between digeneans of the family Brachycladiidae Odhner, 1905 and their marine mammal hosts: a cophylogenetic study. *Parasitology International*, 65, 209–217.
- Gibson, D. I. (1984). Technology as applied to museum collections: the collection, fixation and conservation of helminths. *Systematic Parasitology*, 6, 241-241.
- Gibson, D. I. (2005). Family Brachycladiidae Odhner, 1905. In *Keys to the Trematoda*, Vol. 2. (A. Jones, R. A. Bray, and D. I. Gibson, eds.). CAB International and the Natural History Museum, London, U.K., pp 641–652.
- Gibson, D. I., Harris, E. A., Bray, R. A., Jepson, P. D., Kuiken, T., Baker, J. R., and Simpson, V. R. (1998). A survey of the helminth parasites of cetaceans stranded on the coast of England and Wales during the period 1990–1994. *Journal of Zoology*, 244, 563–574.
- Gui, D., He, J., Zhang, X., Tu, Q., Chen, L., Feng, K., Liu, W., Mai, B., and Wu, Y. (2018). Potential association between exposure to legacy persistent organic pollutants and parasitic body burdens in Indo-Pacific finless porpoises from the Pearl River Estuary, China. *Science of The Total Environment*, 643, 785-792.
- Hafeezullah, M. (1986). On a trematode (Digenea: Campulidae) of a marine mammal from Arabian Sea. *Records of the Zoological Survey of India*, 83, 41-48.
- Hoberg E. P. (1994). Order Tetrabothriidea Baer, 1954. In *Keys to the cestode parasites of vertebrates*. (L. F. Khalil, A. Jones, and R. A. Bray, eds.). CAB International, Wallingford, U.K., pp 295-304
- Hsü, H. F. (1935). Contribution à l'étude des Cestodes de Chine. *Revue Suisse de Zoologie*, 42, 477-570. (In French).
- Hsü, H. F., and Hoeppli, R. (1933). On some parasitic nematodes collected in Amoy. *Peking Natural History Bulletin*, 8, 155-168.

- Huang, Z., Liu, W., Zheng, C., LI, C., Wang, J. and Jefferson, T. A. (2000). Finless porpoises in southern coastal waters of Fujian, China. *Acta Oceanologica Sinica*, 22, 114–119 (*in Chinese, English summary*).
- 石川創. (2008). 漂着鯨類の情報収集・蓄積と社会的活用. *沿岸海洋研究*, 45, 85-90.
- 石川創, 田島木綿子, 石井雅之, 山田格. (2018). 漂着専門委員会報告; 日本沿岸のストランディングレコード2017. *日本セトロロジー研究会第29回大会*, 福岡, 2018年6月.
- Ito, M., Sato, T., Shirai, W., and Kikuchi, S. (1998). Parasites and related pathological lesions in the gastrointestinal tract of a seal (*Phoca vitulina* Linnaeus). *Journal of Veterinary Medical Science*, 60, 1025-1028.
- Isobe, T., Oshihoi, T., Hamada, H., Nakayama, K., Yamada, T. K., Tajima, Y., Amano, M., and Tanabe, S. (2011). Contamination status of POPs and BFRs and relationship with parasitic infection in finless porpoises (*Neophocaena phocaenoides*) from Seto Inland Sea and Omura Bay, Japan. *Marine Pollution Bulletin*, 63, 564-571.
- Jaber, J. R., Pérez, J., Arbelo, M. Andrada, M. Hidalgo, M., Gómez-Villamandos, J. C., Van Den Ingh, T., and Fernández, A. (2004). Hepatic lesions in cetaceans stranded in the Canary Islands. *Veterinary Pathology*, 41, 147-153.
- Jauniaux, T., Petitjean, D., Brenez, C., Borrens, M., Brosens, L., Haelters, J., Tavernier, T. and Coignoul, F. (2002). Post-mortem findings and causes of death of harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) stranded from 1990 to 2000 along the coastlines of Belgium and Northern France. *Journal of Comparative Pathology*, 126, 243-253.
- Jefferson, T. A., and Hung, S. K. (2004). *Neophocaena phocaenoides*. *Mammalian Species*, 746, 1-12.
- Jefferson, T. A., and Wang, J. Y. (2011). Revision of the taxonomy of finless porpoises (genus *Neophocaena*): the existence of two species. *Journal of Marine Animals and Their Ecology*, 4, 3-16.
- 影井昇, 大島智夫, 小林昭夫, 熊田三由, 小山力, 小宮義孝, 竹村暘. (1967). 各種海産哺乳動物に寄生する *Anisakis* 属線虫類の調査. *寄生虫学雑誌*, 16, 427-435.
- 片岡照男, 北村秀策, 関戸勝, 山本清. (1976). スナメリの食性について. *動物園水族館雑誌*, 18, 49-56
- 上村清, 井関基弘, 木村英作, 福本宗嗣. (2008). 寄生虫学テキスト 第3版. 文光堂.
- Kamo, H., Maejima, J., Yazaki, S., and Fukumoto, S. (1982). Notes on morphology

- and taxonomy of the genus *Diphyllbothrium* found from some marine mammals in Japanese environs. *Yonago Acta Medica*, 33, 261-270.
- 菊池滋, 林滋生, 中島将行. (1967). イルカの *Anisakis* 症に関する研究. *寄生虫学雑誌*, 16, 156-166.
- 菊池滋, 奥山義光, 中島将行. (1985). スナメリ *Neophocaena asiaeorientalis* およびオキゴンドウ *Pseudorca crassidens* の肝臓より得た吸虫と病変. *寄生虫学雑誌*, 34(suppl.), 14-15.
- 菊池滋, 中島将行. (1993). オキゴンドウ *Pseudorca crassidens* の小腸に寄生していた鉤頭虫 *Bolbosoma capitatum* の形態と宿主の腸病変. *寄生虫学雑誌*, 42, 398-408.
- 倉持利明. (2000). 海棲哺乳類の寄生虫研究 (<特集> 海の野生動物医学: 海棲哺乳類における獣医学の役割). *Japanese Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 5, 27-36.
- 倉持利明. (2003). 寄生虫(扁形動物・線形動物・鉤頭動物・節足動物). 標本学 自然史標本の収集と管理 第1版. (国立科学博物館 編). 東海大学出版. pp. 70-77.
- Kuramochi, T., Araki, J., and Machida, M. (1990). Pseudaliid nematodes from Dall's porpoise, *Phocoenoides dalli*. *Bulletin of the National Science Museum. Series A, Zoology*, 16, 97-103.
- Kuramochi, T., Kikuchi, T., Okamura, H., Tatsukawa, T., Doi, H., Nakamura, K., and Sakakibara, S. (2000). Parasitic helminth and epizoot fauna of finless porpoise in the Inland Sea of Japan and the western North Pacific with a preliminary note on faunal difference by host's local population. *Memoirs of the National Science Museum, Tokyo*, 33, 83-95.
- Kuramochi, T., Wakao, H., Terasawa, F., Hagiwara, S., Miyauchi, Y., Akamatsu, T., Yamada, T. K., Koda, Y., Sakai, T., Inaba, N., and Yoshida, Y. (2001). Stomach nematodes of the family Anisakidae collected from the cetaceans stranded or incidentally caught in the coasts of the Kanto district and adjoining areas. *Memoirs of the National Science Museum, Tokyo*, 37, 177-192.
- 近藤圭佑, 宮園哲至, 塩崎彬, 會津光博. (2018). 日本近海に棲息するスナメリにおいて *Anisakis* sp. の寄生があった一例. *日本セトロロジー研究会第29回大会*, 福岡, 2018年6月.
- Lin, W., Karczmarski, L., and Wu, Y. (2017). Phylogeography of the finless porpoise and potential implications for the taxonomy of *Neophocaena* spp. *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde*, 86, 92-101.
- Lehnert, K., von Samson-Himmelstjerna, G., Schaudien, D., Bleidorn, C., Wohlsein,

- P., and Siebert, U. (2010). Transmission of lungworms of harbour porpoises and harbour seals: Molecular tools determine potential vertebrate intermediate hosts. *International Journal for Parasitology*, 40, 845-853.
- Lyons, E. T. (1994). Vertical transmission of nematodes: emphasis on *Uncinaria lucasi* in northern fur seals and *Strongyloides westeri* in equids. *Journal of Helminthological Society Washington*, 61, 169-178.
- Marcogliese, D. J. (1995). The role of zooplankton in the transmission of helminth parasites to fish. *Reviews in fish Biology and fisheries*, 5, 336-371.
- Marigo, J., Paulo Vicente, A. C., Schifino Valente, A. L., Measures, L., and Portes Santos, C. (2008). Redescription of *Synthesium pontoporiae* n. comb. with Notes on *S. tursionis* and *S. seymouri* n. comb. (Digenea: Brachycladiidae Odhner, 1905). *Journal of Parasitology*, 94, 505-514.
- Marigo, J., Ruoppolo, V., Rosas, F. C. W., Valente, A. L. S., Oliveira, M. R., Dias, R. A., and Catão-Dias, J. L. (2010). Helminths of *Sotalia guianensis* (Cetacea: Delphinidae) from the south and southeastern coasts of Brazil. *Journal of Wildlife Diseases*, 46, 599-602.
- Mignucci-Giannoni, A. A., Hoberg, E. P., Siegel-Causey, D., and Williams Jr, E. H. (1998). Metazoan parasites and other symbionts of cetaceans in the Caribbean. *Journal of Parasitology*, 84, 939-946.
- Morimitsu, T., Nagai, T., Ide, M., Kawano, H., Naichuu, A., Kono, M., and Ishii, A. (1987). Mass stranding of odontoceti caused by parasitogenic eighth cranial neuropathy. *Journal of Wildlife Diseases*, 23, 586-590.
- Moser, M., and Rhinehart, H. (1993). The lungworm, *Halocercus* spp. (Nematoda: Pseudaliidae) in cetaceans from California. *Journal of Wildlife Diseases*, 29, 507-508.
- 長崎佑, 亀谷俊也. (1976). 海産哺乳類の寄生虫相について (2). *寄生虫学雑誌*, 25(suppl.), 80.
- Nakayama, K., Matsudaira, C., Tajima, Y., Yamada, T. K., Yoshioka, M., Isobe, T., Takahashi, S., and Tanabe, S. (2009). Temporal and spatial trends of organotin contamination in the livers of finless porpoises (*Neophocaena phocaenoides*) and their association with parasitic infection status. *Science of the Total Environment*, 407, 6173-6178.
- Nakazawa, M. (2015). fmsb: Functions for Medical Statistics Book with some

- Demographic Data. R package version 0.5.2. <https://CRAN.R-project.org/package=fmsb>.
- 日本鯨類研究所 ストランディングレコード. <https://www.icrwhale.org/zasho2.html>.
- O'Shea, T. J., Homer, B. L., Greiner, E. C., and Layton, A. W. (1991). *Nasitrema* sp.-associated encephalitis in a striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) stranded in the Gulf of Mexico. *Journal of Wildlife Diseases*, 27, 706-709.
- Olsen, O. W., and Lyons, E. T. (1965). Life cycle of *Uncinaria lucasi* Stiles, 1901 (Nematoda: Ancylostomatidae) of fur seals, *Callorhinus ursinus* Linn., on the Pribilof Islands, Alaska. *The Journal of Parasitology*, 51, 689-700.
- Ozaki, Y. (1935). Trematode parasites of Indian porpoise *Neophocaena phocaenoides* Gray. *Journal of Science of the Hiroshima University. Series B, Division I. Zoology*, 3, 115-138.
- Parsons, E. M. (1997). Hong Kong's Cetaceans: the biology, socioecology and behaviour of *Sousa chinensis* and *Neophocaena phocaenoides* (Doctoral dissertation, The University of Hong Kong (Pokfulam, Hong Kong)).
- Parsons, E. C. M., and Jefferson, T. A. (2000). Post-mortem investigations on stranded dolphins and porpoises from Hong Kong waters. *Journal of Wildlife Diseases*, 36, 342-356.
- Parsons, E. C. M., Overstreet, R. M., and Jefferson, T. A. (2001). Parasites from Indo-Pacific hump-backed dolphins (*Sousa chinensis*) and finless porpoises (*Neophocaena phocaenoides*) stranded in Hong Kong. *The Veterinary Record*, 148, 776-780.
- Petter, A. J., and Pilleri, G. (1982). *Pharurus asiaeorientalis* new species, metastrongylid nematode, parasite of *Neophocaena asiaeorientalis* (Phocoenidae, Cetacea). *Investigations on Cetacea*, 13, 141-148.
- Phillips, A. C. N., and Suepaul, R. (2017). *Nasitrema* species: a frequent culprit in melon-headed whale (*Peponocephala electra*) strandings in Trinidad. *Aquatic Mammals*, 43, 547-557.
- Pilleri, G. (1974). First record of *Anisakis typica* (Nematoda, Ascaridata) in *Delphinus tropicalis* and *Neophocaena phocaenoides* off the coast of Pakistan. *Investigations on Cetacea*, 5, 339-340.
- Poirier, M. J. (1886). Trematodes nouveaux ou peu connus. *Bulletin de la Società Philomathique*, 7, 20-40. (In French).

- Price, E. W. (1932). The trematode parasites of marine mammals. *Proceedings of the United States National Museum*, 81, 1-68.
- Quiazon, K. M. A., Yoshinaga, T., and Ogawa, K. (2011). Distribution of *Anisakis* species larvae from fishes of the Japanese waters. *Parasitology International*, 60, 223-226.
- Quiñones, R., Giovannini, A., Raga, J. A., and Fernández, M. (2013). Intestinal helminth fauna of bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* and common dolphin *Delphinus delphis* from the Western Mediterranean. *The Journal of Parasitology*, 99, 576-579.
- R Core Team. (2016). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- R Core Team. (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Reckendorf, A., Ludes-Wehrmeister, E., Wohlsein, P., Tiedemann, R., Siebert, U., and Lehnert, K. (2018). First record of *Halocercus* sp. (Pseudaliidae) lungworm infections in two stranded neonatal orcas (*Orcinus orca*). *Parasitology*, 1–5. <https://doi.org/10.1017/S0031182018000586>.
- Romero, M. A., Fernández, M., Dans, S. L., García, N. A., González, R., and Crespo, E. A. (2014). Gastrointestinal parasites of bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* from the extreme southwestern Atlantic, with notes on diet composition. *Diseases of Aquatic Organisms*, 108, 61-70.
- Shirakihara, M., Shirakihara, K., and Takemura, A. (1992). Records of the finless porpoise (*Neophocaena phocaenoides*) in the waters adjacent to Kanmon Pass, Japan. *Marine Mammal Science*, 8, 82-85.
- Shirakihara, M., Takemura, A., and Shirakihara, K. (1993). Age, growth, and reproduction of the finless porpoise, *Neophocaena phocaenoides*, in the coastal waters of western Kyushu, Japan. *Marine Mammal Science*, 9, 392-406.
- Shirakihara, M., Shirakihara, K., and Takemura, A. (1994). Distribution and seasonal density of the finless porpoise *Neophocaena phocaenoides* in the coastal waters of western Kyushu, Japan. *Fisheries Science*, 60, 41-46.
- Shirakihara, M., Seki, K., Takemura, A., Shirakihara, K., Yoshida, H., and

- Yamazaki, T. (2008). Food habits of finless porpoises *Neophocaena phocaenoides* in Western Kyushu, Japan. *Journal of Mammalogy*, 89, 1248-1256.
- Siebert, U., Tolley, K., Víkingsson, G. A., Ólafsdóttir, D., Lehnert, K., Weiss, R., and Baumgärtner, W. (2006). Pathological findings in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from Norwegian and Icelandic waters. *Journal of Comparative Pathology*, 134, 134-142.
- Slob, C. M., Hendrikx, W. M. L., Borgsteede, F. H. M., and Hartman, M. G. (1996). Lungworms in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from Dutch waters. In Proc. Third ECS Workshop on Cetacean Pathology, (M. G. Hartman, ed). European Cetacean Society Newsletter, No. 37, pp. 35-40.
- Smith, F. R., and Threlfall, W. (1973). Helminths of some mammals from Newfoundland. *American Midland Naturalist*, 90, 215-218.
- 鈴木絢子, 島崎美里, 戸田遥香, 倉田修, 和田新平, 田島木綿子, 山田格, 森田達志, 塩崎彬, 天野雅男. (2017). 日本海南西部沿岸で座礁したスナメリ (*Neophocaena phocaeno*) にみられた肺病変について. 日本野生動物医学会第 23 回大会, 武蔵野, 2017 年 9 月.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., and Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 2725-2729.
- Tao, J. (1983). A new species and a new Chinese record of nematodes from porpoise *Neophocaena phocaenoides*. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 8, 350-353.
- Tomo, I., Kemper, C. M., and Lavery, T. J. (2010). Eighteen-year study of South Australian dolphins shows variation in lung nematodes by season, year, age class, and location. *Journal of Wildlife Diseases*, 46, 488-498.
- Torres, P., Oporto, J. A., Brieva, L. M., and Escare, L. (1992). Gastrointestinal helminths of the cetaceans *Phocoena spinipinnis* (Burmeister, 1865) and *Cephalorhynchus eutropia* (Gray, 1846) from the southern coast of Chile. *Journal of Wildlife Diseases*, 28, 313-315.
- Wan, X. L., Zheng, J. S., Li, W. X., Zeng, X. Y., Yang, J. W., Hao, Y. J., and Wang, D. (2017). Parasitic infections in the East Asian finless porpoise *Neophocaena asiaeorientalis sunameri* living off the Chinese Yellow/Bohai Sea coast. *Diseases of Aquatic Organisms*, 125, 63-71.
- Wu, H. W. (1929). On *Halocercus pingi* n. sp. a Lung-Worm from the Porpoise,

- Neomeris phocaenoides*. *The Journal of Parasitology*, 15, 276-279.
- Wunschmann, A., Frese, K., Müller, G., Baumgärtner, W., Siebert, U., Weiss, R., Lockyer, C., and Heide-Jørgensen, MP. (2001). Evidence of infectious diseases in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) hunted in the waters of Greenland and by-caught in the German North Sea and Baltic Sea. *Veterinary Record*, 148, 715-720.
- Yamaguti, S. (1951a). Studies on the Helminth Fauna of Japan: Part 45, Trematodes of Marine Mammals, With 2 Plates. *Arbeiten aus der Medizinischen Fakultät zu Okayama*, 7, 283-294.
- Yamaguti, S. (1951b). Studies on the Helminth Fauna of Japan: Part 46, Nematodes of Marine Mammals, With 3 Plates. *Arbeiten aus der Medizinischen Fakultät zu Okayama*, 7, 295-306.
- Yamaguti, S. (1958). CAMPULIDAE Odhner, 1926. *In* Systema Helminthum. Vol. 1. The digenetic trematodes of vertebrates. (S. Yamaguti, eds.) Interscience Publishers, New York. pp. 845-853.
- Yamaguti, S. (1963). POLYMORPHIDAE Meyer, 1931. *In* Systema Helminthum, Vol. 5, Acanthocephala. (S. Yamaguti, eds.). Interscience Publishers, New York, U.S.A., pp. 69-87
- Yamaguti, S. (1971). CAMPULIDAE Odhner, 1926. *In* Synopsis of Digenetic Trematodes of Vertebrates, Vol. 1. (S. Yamaguti, eds.). Keigaku Publ. Co., Tokyo. pp. 724-729.
- Yoshida, H., Shirakihara, K., Shirakihara, M., and Takemura, A. (1995). Geographic variation in the skull morphology of the finless porpoise *Neophocaena phocaenoides* in Japanese waters. *Fisheries Science*, 61, 555-558.
- Yoshida, H., Shirakihara, K., Kishino, H., and Shirakihara, M. (1997). A population size estimate of the finless porpoise, *Neophocaena phocaenoides*, from aerial sighting surveys in Ariake Sound and Tachibana Bay, Japan. *Researches on Population Ecology*, 39, 239-247.
- Yoshida, H., Yoshioka, M., Shirakihara, M., and Chow, S. (2001). Population structure of finless porpoises (*Neophocaena phocaenoides*) in coastal waters of Japan based on mitochondrial DNA sequences. *Journal of Mammalogy*, 82, 123-130.
- Zam, S. G., Caldwell, D. K., and Caldwell, M. C. (1971). Some endoparasites from

small odontocete cetaceans collected in Florida and Georgia. *Cetology*, 2, 1–11.

Zwickl, D. J. (2006) Genetic Algorithm Approaches for the Phylogenetic Analysis of Large Biological Sequence Datasets under the Maximum Likelihood Criterion. The University of Texas, Austin.
www.bio.utexas.edu/faculty/antisense/garli/Garli.html.